

1. ウイルス第一部

部長 西條 政幸

概要

2017 年度には以下の人事異動があった。2017 年 4 月 1 日付けで、加藤文博氏とギジェルモ・ボサダス・エセラ氏がともに研究員（若手育成型）として、それぞれ第三室と第二室に着任した。また、主任研究官中山絵里氏は同年 4 月 1 日付けでオーストラリア QIMR Berghofer Medical Research Institute (Andreas Suhrbier 教授) に研究留学のために休職に入った。

ウイルス第一部では出血熱ウイルス、新興ウイルス感染症、ポックスウイルス、アルボウイルス（日本脳炎ウイルス、デングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス等）、神経ウイルス（狂犬病ウイルス、JC ウイルス等）、ヘルペスウイルス（単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス等）、リケッチア（つつが虫病、日本紅斑熱等）、クラミジア（性器クラミジア、オウム病クラミジア等）、Q 熱の基礎研究、血清及び分子疫学、感染症発症機序の解析と診断、治療、予防方法の開発に関する研究が行われた。それぞれの研究成果は学術雑誌において学術論文として発表され、また、国内外の学会等においても学術発表された。

第一室においては、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) に関する基礎的ウイルス学、臨床・疫学的解析、治療法・ワクチン開発等の研究が精力的になされた。ポックスウイルスに関する研究では、高度弱毒化細胞培養痘瘡ワクチンに外来遺伝子を挿入するシステムを用いて高病原性ウイルスに対するワクチンを開発する研究が進められた。具体的には SFTS ウイルスやエボラウイルスに対するワクチン開発研究が推進された。その他、デングウイルス感染症の重症化機序を解明する研究も進められた。高度封じ込め施設において、霊長類を用いて抗体製剤の SFTS に対する治療効果を調べる研究が実施された。さらに、抗ウイルス薬フェビピラビルの SFTS 患者における治療の有用性を調べる医師主導型臨床研究に、ウイルス学的診断やウイルスゲノム量測定などにおいて貢献した。

SFTS ウイルスと同様にブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類され、米国で重症感染症を引き起こすハートランドウイルス感染症に関する研究と新興ウイルス感染症に関する研究として、近年日本で発見された Soft tick bunyavirus (Issyk-kul fever を起こす Issyk-kul virus と近縁) と Issyk-kul virus について、病原性の解析や治療・予防法を開発する研究が開始された。

第二室においては、デングウイルスに対する抗ウイルス薬開発に関する研究、ジカウイルス感染症関連研究（分離されたジカウイルスの性状解析、動物モデル開発、組換えジカウイルスを作出するためのリバースジェネティクス法の開発、迅速診断法の開発他）、日本脳炎ウイルスおよびその他のフラビウイルスに対する抗体検査における中和抗体測定の重要性を評価する研究等がなされた。ジカウイルス感染症、チクングニア熱、およびデング熱等のウイルス学的な検査が実施された。

特にジカウイルス感染症研究においては、I 型インターフェロン (IFN- α/β) 受容体欠損マウスおよび霊長類を用いた感染モデルの開発、ワクチン開発、アフリカ型ジカウイルスとアジア型ジカウイルスの病原性の違いを規定する因子に関する研究が進められた。これらは、日本医療研究開発機構 (AMED) からの研究支援で実施されているジカウイルス感染症対策研究において中心的なものとなっている。

日本脳炎ウイルスに関する研究では、遺伝子型 V 型の日本脳炎ウイルスに関する研究が精力的に実施された。近年、中国や韓国では遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルスが分離、検出されていることから、その流行動向や病原性については、国際的にも注目されている。

第三室においては、狂犬病ウイルスと進行性多巣性白質脳症 (PML) を引き起こす JC ウイルスに関する研究が継続された。狂犬病ウイルス研究においては、P 遺伝子欠損狂犬病ウイルスをベクターとして、リンパ球脈絡髄膜炎ウイルスや MERS コロनावirus [中東呼吸器症候群 (MERS) の原因ウイルス] に対する

ワクチン開発研究がなされた。

神経ウイルス感染症の診断能力強化のため、アメリカ大陸や欧州で流行している節足動物媒介性ブニヤウイルスによる脳炎（LaCrosse ウイルス等）の診断システムを開発して整備する研究が開始された。

PML に関する研究では、高感度 JC ウイルス検出法を開発し、そのシステムを用いて日本国内からの検査依頼に応え、患者の治療に貢献するとともに、日本における PML に関する患者の臨床的背景、疫学を明らかにした。

第四室においては、単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1)、単純ヘルペスウイルス 2 型 (HSV-2)、水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV)、ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) に関する研究がなされた。アシクロビル (ACV) 等に耐性を示す HSV-1 による感染症に関する基礎的研究の他、国内の医療機関から難治性の HSV-1 感染症および HCMV 感染症患者における原因ウイルスの薬剤感受性検査を多数引き受けた。LC16m8 痘瘡ワクチンを基盤とした HSV-2 ワクチン開発研究も実施された。

ベトナムに生息するオオコウモリから分離されたアルファウイルスの性状解析、霊長類のアルファウイルスである B ウイルスに対するワクチン開発等の研究もなされた。

第五室においては、リケッチア感染症（日本紅斑熱、つつが虫病等）対策に関する総合的研究、リケッチア症検査に開発と評価に関する各地方衛生研究所との連携を維持・強化するための活動がなされた。また、リケッチア分離株のリソース構築を行うとともに、ダニ媒介性細菌感染症の疾患発生に係る地域特性把握のための野外調査とリスク評価に関する研究も継続された。リケッチアに関する基礎的研究では、組換え抗原を利用したつつが虫病血清診断法の開発、つつが虫病リケッチアの細胞内増殖に関する分子生物学的解析等が実施された。エーリキア症に関する研究も実施された。

以上の研究活動に対して、厚生労働省、AMED、文部科学省、等から研究費の助成を受けた。

2017 年度は、細胞培養痘そうワクチン、日本脳炎ワクチン、狂犬病ワクチン、水痘ワクチンおよび水痘抗原の国家検定と黄熱ワクチンの依頼検査、クラミジア・

トラコマティスの体外診断薬の承認前試験の検討を担当した。ウイルス第一部が担当するウイルスやリケッチア等による感染症および患者検体に関する行政検査、依頼検査を担当した。各病原体に関するレファレンス活動、各種国際協力活動を行った。AMED の助成により 1 名の流動研究員を受け入れた。また、各室において協力研究員と、大学や研究機関等から研究生、実習生を受け入れた。

業績

調査・研究

I. ウイルス性出血熱及び新興・再興感染症に関する研究

1. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) に関する研究

1) SFTS ウイルスの治療用ヒト抗体に関する研究

SFTS は症状が重篤で致死率が約 20% と高い。効果の認められている特異的な治療法はない。カニクイザルを用いたこれまでの研究で SFTS ウイルス (SFTSV) に対する抗血清より精製された抗体投与が治療効果を示すという結果が得られている。そこで、より高い効果と大量調整を可能とするために、治療効果を有するヒト単クローン抗体作製が可能かどうか検討した。SFTS 回復期患者から提供された末梢血単核球を SFTSV 抗原で刺激し、活性化された B 細胞から抗体遺伝子をクローニングした。再構築させたヒト抗体を、SFTSV を感染させた I 型インターフェロン受容体欠損マウスに投与したところ、生存期間の延長、体重減少の遅延、もしくは救命効果を示すヒト単クローン抗体が得られた。しかし、その効果は十分とは言えず、親和性の向上や抗体の修飾等により、より治療効果が高い抗体に改変する必要があると考えられた。[下島昌幸, 杉元聡子, 黒須剛, 福士秀悦, 吉河智城, 西條政幸; 高橋宜聖 (免疫部)]

2) SFTS ウイルスの系統学的解析

私たちは以前に中国、韓国、そして日本に分布している SFTSV の分子疫学的、系統学的解析を行いその結果を報告した (J Infect Dis. 2015. PMID: 25762790)。その後、特に韓国で同定された多数の SFTSV の全ゲノム配列が Genbank に登録され

たことから、新たに登録された配列を含めて再度系統樹解析を実施した。また、他の研究グループよりなされた研究をもとに、中国、韓国、日本における系統学的解析結果と地理的な分布との関連について詳細に検討した。系統樹は以前の研究結果と類似した樹形となり、ウイルス株の地理的分布と良く相関し、中国株と日本株の二つのクラスターに分類された。新たな知見として、中国の舟山島、韓国の済州島そして日本の宮崎県には日本株の遺伝子型である J3 が多く存在していることが明らかになった。SFTSV を保持するダニは海を越えて運ばれていること、そして運び役を担うトランスポーターの存在が示唆された。[吉河智城、下島昌幸、渡部俊平、杉元聡子、Supranee Phanthanawiboo、黒須剛、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸]

3) SFTSV の疫学調査に関する研究

2016年度までに、日本における健常者の SFTSV 抗体保有率と感染リスクを明らかにするため、鹿児島県内の SFTSV 流行地域において、ダニに噛まれるリスクが高い狩猟関係者とそのリスクの低い一般住民における SFTSV 抗体保有率を調査した。その結果646検体中、2検体のみ抗体陽性で、狩猟関係者、一般住民の間で抗体陽性率に差は認められなかった。2017年度は、鹿児島県内で提供された献血血液の1,000検体について抗体スクリーニングを行った。すべて SFTSV 抗体陰性であることが明らかにされた。これらの結果から、SFTSV 流行地域でも、健常者の抗体陽性率は低い(0.1%, 2 / 1,646) ことが明らかとなった(鹿児島県環境保健センターと共同研究)。[福士秀悦、渡辺俊平、黒須剛、吉河智城、緒方もも子、下島昌幸、西條政幸; 谷英樹(富山大学); 御供田睦代(鹿児島県環境保健センター)]

4) カフェ酸の重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する増殖抑制効果に関する研究

SFTSV に対する、コーヒー関連有機酸であるカフェ酸(CA)の増殖抑制効果の評価した。CA は用量依存的にヒト肝癌由来 Huh7.5.1-8 細胞における SFTSV 感染を阻害した。一方、別のコーヒー関連有

機酸であるキナ酸は、SFTSV 感染を阻害しなかった。CA は、SFTSV の Huh7.5.1-8 細胞への結合を減少させた。CA は SFTSV 粒子に直接作用し、主に宿主細胞へのウイルス結合を阻害することによって、ウイルス感染および増殖を阻害していることが示唆された。抗 SFTSV 薬としての CA の有用性が示された。[小川基彦、安藤秀二、下島昌幸、西條政幸; 白砂圭崇、深澤征義(細胞化学部)]

2. 中東呼吸器症候群 (MERS) に関する研究

1) 中東呼吸器症候群 (MERS) ウイルス(MERS-CoV) の血清診断法に関する研究

MERSは2012年にサウジアラビアで初めて報告された、新規コロナウイルス(MERS-coronavirus, MERS-CoV) による感染症である。MERS-CoV のスパイク(S) 蛋白質に対するモノクローナル抗体を新規に樹立し、これを酵素標識して用いることで競合ELISAによる、他のコロナウイルスと交叉性がない抗体測定技術を確立した。MERS-CoV を用いた中和試験において、MERS-CoV中和活性があることが確認されている血清(MERS-CoVを感染させたマウスおよびラット血清, MERS-CoV-S蛋白質を免疫したウサギ血清および、エチオピアのヒトコブラクダから採取された血清)を用いて競合ELISAのMERS-CoVに対する特異的な抗体検出における有用性を評価した。ほぼすべての血清が競合ELISAで陽性を示した。また、MERS-CoV に対する中和活性のない陰性対照血清はすべて陰性を呈した。これらの結果から、本研究で開発された競合ELISAはMERSの血清診断およびMERS-CoV抗体スクリーニングに有用であることが示唆された。[福士秀悦、谷英樹、渡辺俊平、黒須剛、吉河智城、緒方もも子、下島昌幸、西條政幸; 大西和夫、阿戸学(免疫部); 白戸憲也、松山州徳(ウイルス第三部); 岩田奈織子、永田典代(感染病理部)]

3. クリミア・コンゴ出血熱 (CCHF) に関する研究

1) CCHF の診断法の迅速化に関する研究

CCHF を含む一類感染症の実験室診断の迅速化

は事例発生により引き起こされると予想される国民の健康被害や混乱，経済への影響をより低減させると考えられる．様々な方法により迅速化を図ることが求められる．現在，一類感染症の実験室診断は国立感染症研究所のみで行なわれており，地方衛生研究所でも実施できれば検体の輸送に要する時間を短縮できるため，迅速化が期待できる．前年度までに導入した CCHF ウイルス (CCHFV) のゲノムを定量的に検出するためのリアルタイム RT-PCR 法は高い感度を有し，かつ，迅速に病原体である CCHFV を検出できる．これが地方衛生研究所でも実施できるか否かを試行した．希望した 5 か所の地方衛生研究所に検査法のマニュアル，必要となる試薬 (プライマー，プローブ)，陽性 RNA コントロールを送付し，複数回検討してもらった．いずれの衛生研究所においても感度よくかつ再現性をもって本リアルタイム RT-PCR が試行された．実際の実施を考えた場合にいくつか懸念事項があげられており，それらの解決が他の研究所への展開に必要と考えられた．[下島昌幸，富士秀悦，黒須剛，渡辺俊平，西條政幸；豊嶋千俊 (愛媛県立衛生環境研究所)；池田辰也 (山形県衛生研究所)；新開敬行 (東京都健康安全研究センター)；三好龍也 (堺市衛生研究所)；木田浩司 (岡山県環境保健センター)]

2) CCHFV 中和抗体価測定法に関する研究

中和抗体価は病原体に対する抗体の有無を高い特異性で示す指標となる．ELISA 等，比較的安価で実施しやすい抗体検出法で CCHFV と交差反応性を示すウイルスが CCHFV の浸潤地域に存在することが知られており，CCHFV に対する中和抗体の測定法がより正確な CCHF の実験室診断に必要である．しかし CCHFV は現在日本国内にはなく，またその取扱いも BSL4 実験室を必要とするため，BSL3 以下で比較的容易に中和抗体価が測定できないかどうかを検討した．私たちは既に CCHFV のエンベロープ蛋白質を外殻した非増殖型 VSV (BSL2 で取扱い可能) が CCHFV 自身と類似する細胞への感染機序を示すことを報告した．この非増殖型 VSV を中和抗体価測定に応用した．

CCHFV に <20 から >2,560 までの中和抗体価を示す計 8 個の血清を用いて検討したところ，非増殖型 VSV を用いた抗体測定法で得られた中和抗体価が，感染性 CCHFV を用いて得られた抗体価とほぼ同等であった．中和抗体価の有無が逆転するような血清はなかった．非増殖型 VSV に対する中和抗体価を用いて CCHFV に対する中和抗体価を間接的に示すことが明らかになった．本法は特異性の高い CCHF の血清診断のひとつとなる．検証は必要ではあるものの，本法は動物における CCHFV 抗体の陽性率を調べる調査にも応用可能であり，動物血清の解析による CCHFV の浸潤状況の調査等に活用できると考えられる．[下島昌幸，西條政幸，須田遊人；堀本泰介 (東京大学大学院)]

4. ハートランドウイルス (HRTV) に関する研究

1) 各種マウスのハートランドウイルス感染に対する感受性の検証

ハートランドウイルス (HRTV) は SFTSV に遺伝子学的に近縁であり，ヒトが同ウイルスに感染すると SFTS の臨床症状類似する症状を呈する．HRTV 感染症の病態解明やワクチン開発，治療法の開発には適切な動物感染モデルが必要となる．そこで，HRTV をマウスに感染させたときの病態を調べることで，HRTV 感染マウスモデル開発を目指した．種類や週齢が異なるマウスの HRTV 感染に対する感受性を評価した．1 日齢および 6 週齢の BALB/c マウス，C57BL/6 マウスに HRTV を接種 (皮下接種又は脳内接種) し 2 週間観察した．その結果，C57BL/6 マウスはいずれの週齢および接種方法においても，HRTV 感染に特異的な症状は呈さなかった．一方 BALB/c マウスは，いずれの週齢についても脳内接種した際には HRTV 感染に特異的な症状は観察されなかったものの，皮下接種により非感染群と比較して，有意な体重減少 (最大平均 5% 程度) が観察された．C57BL/6 マウスをバックグラウンドとする I 型インターフェロン受容体欠損 (IFNARKO) マウスに SFTSV を感染させると，致死的事であることが報告されて

いるため、IFNARKO マウスの HRTV 感受性を評価した。HRTV を IFNARKO マウスに皮下接種し、2 週間観察した結果、非感染群と比較して有意な体重減少（最大平均 10% 程度）が観察された。また、感染 2 日目および 4 日目において、全ての HRTV 感染 IFNARKO マウスの血液中に HRTV RNA が検出された。以上の結果より、i) HRTV 感染に対する感受性は、IFNARKO マウス > BALB/c マウス > C57BL/6 マウスであること、ii) IFNARKO マウスを HRTV 病態モデルとして使用できることが示唆された。また、iii) SFTSV 感染防御には I 型インターフェロン (IFN) シグナル経路が重要であるのに対し、HRTV 感染防御には I 型 IFN シグナル経路は部分的に寄与している程度のものであり、他に重要なシグナル経路があることが示唆された。先行研究において、129 マウスをバックグラウンドとする I 型 II 型 IFN 受容体欠損マウスは HRTV 感染により致死的事であることから、HRTV 感染防御における II 型 IFN シグナル経路の重要性が考察された。[福士秀悦, 藤井ひかる, 谷口怜, 吉河智城, 林昌宏, 伊藤睦代, 前木孝洋, 黒須剛, 下島昌幸, 西條政幸; 谷英樹 (富山大学); 江川和孝 (岐阜大学院連獣); 宇田晶彦, 森川茂 (獣医科学部)]

2) 各種薬剤のハートランドウイルス増殖阻害効果の評価

SFTSV に対し、*in vitro* および *in vivo* においてリバビリンおよび T-705 の有効性が示されている。そこで HRTV の性状は SFTSV のそれに類似していることから、これらの薬剤及びその誘導体の HRTV に対する *in vitro* における増殖抑制効果を評価した。Vero 細胞において、各種濃度のリバビリン、T-705 および T-705 の誘導体である T-1105、T-1106 存在下で HRTV を培養し、50% 阻害濃度 (IC₅₀) を算出した。リバビリン、T-705、T-1105、T-1106 の IC₅₀ はそれぞれ 47, 30, 103, 1000 μM であった。今後、リバビリンおよび T-705 の *in vivo* における HRTV 感染症に対する治療効果を調べる必要がある。[福士秀悦, 藤井ひかる, 谷口怜, 吉河智城, 林昌宏, 伊藤睦代, 前木孝洋,

黒須剛, 下島昌幸, 江川和孝, 西條政幸; 谷英樹 (富山大学); 宇田晶彦, 森川茂 (獣医科学部)]

5. 感染モデルを用いた出血熱ウイルス病原機序の解析

ウイルス性出血熱は重篤な疾患を起こす。重症ウイルス性出血熱の病態機序の解明、効果的な治療法の開発、治療法評価システム開発を目指し、樹立したインターフェロン系ノックアウトマウス (IFN-KO マウス) 感染動物モデル系を用いて病原機序を解析した。デングウイルス感染症 (デング熱) は比較的致死率の低い感染症であるが、デング出血熱になると高い死亡率を示す。デングウイルス 3 型 DV3P12/08 株は、IFN-KO マウスに血漿漏出を伴う致死感染を引き起こす。この系では、抗 TNF- α 中和抗体を投与することにより生存期間を延長させることができる。顕著な血漿漏出が観察された感染マウスの肝臓および腸管から得られた RNA についてマイクロアレイを用いて遺伝子発現を解析した。重症化に関与すると考えられる候補因子を選択し、経時的に集められた各臓器からの宿主 RNA を用いて、候補因子および候補因子関連因子について定量的に解析した。また阻害剤を用いて各因子の重症化への関与を検討し、免疫関連因子の関与を強く示唆する結果を得た。[黒須剛, 下島昌幸, 福士秀悦, 吉河智城, 西條政幸; 奥崎大介 (大阪大学微生物病研究所)]

6. 新規ブニヤウイルスに関する研究

1) Soft tick bunyavirus の性状解析に関する研究

近年国内で分離され soft tick bunyavirus (STBV) と名付けられたブニヤウイルスは中央アジアでイシクル熱を引き起こしている Issyk-kul virus (ISKV) と系統樹解析から非常に近縁である。国内で STBV 感染症患者の報告はないが、STBV のウイルス学的な性質が ISKV のそれと類似しているか否かを検討した。いずれのウイルスも type I IFN receptor 欠損マウスに感染させると致死感染を引き起こすが、少ない量の STBV を接種した場合には死亡までに必要な期間 (日数) が ISKV

を感染させた場合に比べて長かった。またマダニ由来の細胞株2種における増殖性を調べたところ、STBVは一方の細胞株では増殖しなかった。STBVはISKVとは明らかに異なる性状を示すことが判明した。〔下島昌幸，杉元聡子，西條政幸〕

II. ポックスウイルスに関する研究

1. ワクチニアウイルスに関する研究

1) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台とした SFTS ウイルスに対するワクチン開発

細胞培養痘そうワクチンの製造承認株であるワクチニアウイルス LC16m8 株は、ワクチンとしての免疫原性を維持しつつ安全性の高いワクチン株である。私たちはワクチニアウイルスの遺伝子組換え系を既に確立している。現在この株の長所を生かして、SFTS に対する効果的なワクチンを開発している。本年度は SFTSV の核タンパク質(N)、膜タンパク質 (GPC) をそれぞれ単独または同時に発現する組換え LC16m8 (それぞれ m8-N, m8-GPC, m8-N+GPC) を作製し、その防御免疫誘導能の強さを評価した。対照として EGFP を発現する m8-EGFP を使用した。あらかじめ m8-EGFP, m8-N, m8-GPC, m8-N+GPC をそれぞれ接種しておいた I 型インターフェロン受容体ノックアウトマウスに、 1.0×10^3 または 1.0×10^5 の SFTSV を感染させた。いずれの SFTSV 接種量においても、m8-EGFP を接種した群は全頭が死亡した一方で、m8-N, m8-GPC, m8-N+GPC 接種群では全頭が生存した。本結果は LC16m8 ベースの SFTS ワクチンの有効性を示唆するものである。〔吉河智城，谷口怜，加藤博史，山田壮一，藤井ひかる，原田志津子，津田美穂子，福井良子，柴村美帆，杉元聡子，Supranee Phanthanawiboo，渡部俊平，黒須剛，福士秀悦，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）〕

2) 高度弱毒化痘瘡ワクチン LC16m8 を土台とした B ウイルス (MaHV-1) に対するワクチン開発に関する研究

Macacine herpesvirus 1 (MaHV1, 通称 B ウイルス, BV) は、アジア産マカク属のサルからヒトへ

と致死感染を起こすことから、サルを扱う実験従事者における安全性の確保はとても重要である。現在では、適切な実験時の安全管理、供給コロニーでの B ウイルス陽性サルの排除等によりその発生は抑えられているが、野生サルを含め高い割合で抗体陽性サルの存在があり、潜在的な脅威は残ったままである。本研究では、根本的な BV 感染症に対する予防としてワクチニアウイルス LC16m8 に BV 蛋白質を組込んだワクチンの開発を目指した。前年度は BV の膜糖蛋白質 gD (BV-gD) 遺伝子を相同組換えにより LC16m8 に組み込み、BV-gD を発現する組換え LC16m8 (LC16m8-gD) を構築した。本年度は動物 (BALB/c マウス) に LC16m8-gD を接種し、4 週後に採血し、BV-gD に対する抗体誘導を評価した。BV-gD 発現プラスミドをトランスフェクションさせ、組換え BV-gD を発現させた細胞を用いた IFA では、明確な抗体誘導は認められなかった。また、前年度構築した BV の膜糖蛋白質 gD, gB, gE, gI, gL 蛋白質発現プラスミドをそれぞれ細胞にトランスフェクションし、抗 BV 抗体陽性サル血清を用いて IFA によりその反応性を解析した。36 の陽性サル血清のうち、4 血清で BV gB 及び gD 蛋白質発現細胞でそれぞれ陽性反応が認められた。BVgE 蛋白質発現細胞では、より多くの陽性サル血清で蛍光が認められたが、陰性サル血清においては非特異的な蛍光も認められた。BV-gI 及び BV-gL では蛍光は認められなかった。一方で BV-gB, BV-gD 及び BV-gE 全てに抗 HSV-1 または HSV-2 血清との交差が認められた。〔山田壮一，吉河智城，西條政幸〕

III. フラビウイルスに関する研究

1. デングウイルスに関する研究

1) レポーターレプリコン恒常発現細胞の評価

デングウイルス (DENV) ゲノム複製を高効率・高感度・簡便・安全に評価できるレポーターレプリコン恒常発現細胞の高効率薬剤スクリーニング系としての有用性を評価した。既知の抗ウイルス化合物を用いスクリーニング系において最も重要

な指標となる Z factor を算出したところ、高効率スクリーニング系として応用可能であるという結果が示された。[加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 日紫喜隆行 (東京都医学総合研究所); 高崎智彦 (神奈川県衛生研究所)]

2) 抗 Dengue ウイルス化合物の探索と性状解析

レポーターレプリコン恒常発現細胞を用いて、化合物ライブラリーから抗 DENV 活性を有する化合物のスクリーニングを行った。14 化合物と 2 抽出物が選抜された。これら化合物はいずれも細胞毒性をあまり示さなかった。そのうち 11 化合物は、半数阻害効果を示す濃度と半数細胞毒性を示す濃度比が 10 倍以上であった。[加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 日紫喜隆行 (東京都医学総合研究所); 高崎智彦 (神奈川県衛生研究所)]

3) 脂質合成経路阻害剤における抗 Dengue ウイルス活性機序の解明

脂質合成経路の SCD1 を阻害する MK-8245 の、すべての血清型の DENV および Zika ウイルス (Zika virus, ZIKV) に対する抗ウイルス活性を調べた。MK-8245 は低い細胞毒性とともに非常に強い抗ウイルス活性を示すことが明らかとなった。その阻害機序として DENV 複製に重要な役割をはたしていると考えられている脂肪酸合成経路において、オレイン酸、パルミトレイン酸を合成する SCD1 を阻害することによるものであることが示唆された。[加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 日紫喜隆行 (東京都医学総合研究所)]

4) 生薬由来化合物 hirustine の抗 Dengue ウイルス活性解析

生薬由来化合物 hirustine を抗 DENV 活性のある薬剤として、フォーカスアッセイ法を用いたスクリーニングにより同定した。同化合物はすべての血清型の DENV に対する増殖抑制効果があることが明らかとなった。また time-of-addition 法により DENV 複製過程のうち、後期過程を阻害する化合物であることが明らかとなった。[加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 日紫喜隆行 (東京都医学総合研究所)]

5) 国内 Dengue 熱患者検体中の Dengue ウイルスゲノム

解析

昨年度までに確立した、Dengue 熱患者検体からの次世代シーケンサーを用いた DENV ゲノム解析法を用いて、当部で保有する検体中の DENV ゲノム全長配列を決定した。塩基配列データを、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターで開発したデータベース化プラットフォーム GenEpid-J に登録した。[田島茂, 池田真紀子, 柴崎謙一, 林昌宏; 関塚剛史, 山下明史, 加藤健吾, 黒田誠 (病原体ゲノム解析研究センター)]

6) サイクロフェニルの Dengue ウイルス増殖抑制機序の解析

これまでに、臨床使用されている薬剤サイクロフェニル (CF) が DENV に対し増殖抑制効果を有することを示してきた。今年度は、CF が DENV ゲノム RNA 合成阻害活性を有さないこと、ウイルス粒子放出阻害活性を有さないことを示した。さらに電子顕微鏡やスクロス密度勾配遠心による解析では、CF 添加・非添加の DENV 感染細胞間で、細胞の小胞体や、そこに含まれるウイルス様粒子の構造や感染ウイルス粒子の量に差異が認められることを明らかにした。[田島茂, 藤間大貴, 加藤文博, 林昌宏, 西條政幸]

7) Dengue ウイルス 2 型の動物遺伝子型間における中和抗体誘導能の比較検討

Dengue ワクチンの開発においては同一の血清型に対する抗原を接種しても異なる遺伝子型のウイルスを中和しない現象が報告されている。そこで Dengue ワクチンに使用する Dengue ワクチン候補株によって誘導される中和抗体応答と野生株によって誘導される中和抗体応答を比較検討するために、Dengue ウイルス 2 型 (DENV2) のうち、異なる遺伝子型のウイルス株をマーマセットに接種したときの中和抗体の誘導について詳細に検討した。本研究ではヒトの免疫学的反応に対する動物モデルとしてマーマセットを用いた。DENV2 を接種させたマーマセットにおいてはウイルス血症が観察され、ヒトと同様に抗 DENV2 抗体が誘導された。第 1 回感染個体 (n = 29), 第 2 回感染個体 (n = 25) および第 3 回感染個体 (n = 5) の計 34

頭のマーマセットから合計 59 の血漿サンプルを得た。第 1 回および第 2 回接種後の血清において異なる遺伝子型の DENV2 に対する異なるレベルの中和抗体誘導が観察され、第 1 回感染および第 2 回感染における遺伝子型が第 2 回感染後に誘導される中和抗体のレベルおよび交差性に影響することが示唆された。この結果は特定の遺伝子型がデングワクチン候補株となり得ることを示唆した。

[谷口怜, Muhammad Azami Nor Azila, 林昌宏, 西條政幸, 倉根一郎; 網康至, 須崎百合子 (動物管理室), Moi ML (長崎大); 高崎智彦 (神奈川県衛生研究所)]

2. 日本脳炎ウイルスに関する研究

1) 2016 年に報告された日本脳炎患者の日本脳炎ウイルス遺伝子型同定の試み

日本脳炎は日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus, JEV) による中枢神経感染症である。JEV の血清型は 1 つであり、遺伝子型は I 型 (JEV GI) から (JEV GV) 型の 5 つに分類される。JEV GV 型株と JEV GI 型あるいは JEV G III 型株とのアミノ酸配列の相同性は 90 %前後であり、JEV GI 型株と JEV G III 型株との間の相同性 (97 %前後) より低い。これまで日本で分布していることが報告されているのは、JEV GI 型と JEV G III 型だけである。しかし近年中国や韓国において、JEV GV 型が検出されたことが報告された。2016 年には、日本で 11 例の日本脳炎患者が報告され、そのうち 4 例が長崎県対馬からであった。そこで、私たちは 2016 年に報告された日本脳炎患者に、JEV GV 型による症例が含まれているか否かについて、患者から採取された検体を用いて解析した。試料には、2016 年に報告された日本脳炎患者 10 人より採取された血清・髄液が用いられた。まず、急性期検体 (血清・髄液) からの JEV 遺伝子検出を試みたが、いずれの検体からも JEV 遺伝子は検出されなかった。次に、血清・髄液を用いて JEV に対する IgM-capture ELISA を実施した結果、全ての検体が陽性を示し、さらに JEV (III 型の北京株) に対する中和試験で

は、全ての回復期血清が、50 %プラーク減少法で 640 以上の中和抗体価を示した。さらに、それらの血清を用いて JEV GI 型および GV 型 (野生分離株) に対する中和試験を実施し、JEV GV 型に対する中和抗体価と JEV GI 型および III 型に対する中和抗体価を比較した。その結果、いずれの血清も JEV GV 型に対する中和抗体価は、GI 型あるいは G III 型に対する中和抗体価と同等かそれ以下であった。以上より、今回の解析では 2016 年に報告された日本脳炎患者に、JEV GV 型による症例が含まれていたと考えられる根拠は得られなかった。JEV GV 型の侵入を検知する取り組みの一環として、患者血清を用いた JEV GV 型と GI 型・G III 型間の中和抗体価の比較を継続する必要がある。[前木孝洋, 田島茂, 加藤文博, 柴崎謙一, 池田真紀子, 谷口怜, 高崎智彦, 林昌宏, 西條政幸]

2) 日本脳炎患者血清を用いた、フラビウイルス間の抗体交差反応の解析

JEV は ZIKV, DENV, ウエストナイルウイルス (WNV) 等と同様に、フラビウイルス科フラビウイルス属に分類される。近年、南米を中心に ZIKV が流行した際に、抗 ZIKV 抗体と抗 DENV 抗体との交差反応により、ZIKV 感染症の血清学的診断が困難となることが注目された。一方、抗 JEV 抗体が、他のフラビウイルスに対して示す交差反応については不明な点が多い。そこで、私たちは日本脳炎の患者血清を用いて、抗 JEV 抗体の、他のフラビウイルス (ZIKV, DENV, WNV) に対する交差反応を検討した。解析には、2016 年に報告された 11 例の日本脳炎患者のうち、10 例より採取された血清を用いた。これらの血清を用いた JEV IgM ELISA および中和試験により日本脳炎の診断を確認した。即ち、全ての血清が JEV IgM ELISA で陽性を呈し、全ての回復期血清が 50 %プラーク減少法で 640 以上の中和抗体価を示した。他のフラビウイルスに対する交差反応を検討するため、これらの血清を用いて DENV に対する IgM, IgG ELISA および ZIKV, DENV, WNV に対する中和試験を行った。DENV に対する IgM

ELISA では 16 検体中 8 検体で, IgG ELISA では 16 検体中 12 検体で陽性の結果を示した. 中和試験では, DENV, ZIKV に対する中和能は検出されなかった. 一方, WNV に対する中和活性は検出されたが, その中和抗体価は, JEV に対する中和抗体価の 8 分の 1 以下であった. 本解析により, 日本脳炎とその他のフラビウイルス感染症の診断には中和試験も合わせて実施することがより正確な血清学的診断において重要であることが示された. [前木孝洋, 田島茂, 加藤文博, 柴崎謙一, 池田真紀子, 谷口怜, 林昌宏, 西條政幸; 高崎智彦 (神奈川県衛生研究所)]

3) リバースジェネティクス法による JEV V 型の増殖性状に関わる部位の同定

これまでに, JEV 遺伝子型 V 型 (JEV V) に分類される Muar 株の蚊由来培養細胞における高い増殖性に NS1 から NS3 の領域が部分的に関与することを示してきた. 一方で Muar 株は, マウス株化細胞 N18 細胞での増殖性が, 他の遺伝子型の株のそれに比べて著しく低いことも示してきた. 今年度は, N18 細胞における Muar 株の低増殖性に関わるゲノム上の領域を明らかにすることを試みた. 昨年度リバースジェネティクス法により作製した 4 種類の組換え JEV を用いて, N18 細胞での増殖能を調べたところ, Muar 株の NS 1-3 領域, および NS4A-5 領域が Muar 株の低増殖性に関わることが明らかとなった. 次にこれらの領域中でも特に増殖能が低下した NS1-3 領域について, さらに責任領域を絞り込むため新たに 3 種類の組換えウイルスを作製し解析した. その結果, NS2A 部位が低増殖性に関わることが明らかとなった. [田島茂]

4) 血清銀行の血清を用いた, フラビウイルス間の交差反応の解析

日本においては, 感染症流行予測調査の一環として, JEV に対する抗体の保有状況が調査されている. そして, ワクチン接種対象年齢以降の 4 歳から 20 歳代までの年齢層が, JEV に対して高い抗体価を保有していることが報告されている. しかし, それらの JEV に対する抗体が, 他のフラ

ビウイルスに交差反応を示すか否かについては明らかにされていない. そこで血清銀行の血清を用いて, 抗 JEV 抗体が他のフラビウイルスに対して示す交差反応の有無について解析した. 本解析には, 血清銀行より提供された 960 血清を用いた.

まず, JEV に対して高い (50% プラーク減少法で 160 以上) 中和抗体価を有する血清を選別するために, JEV (北京株) に対する中和試験を実施し, 得られた結果を, 感染症流行予測調査により報告されている抗体保有状況 (2016 年) と比較した. 960 血清のうちの 300 血清で, JEV に対する中和抗体価を測定し, その結果が 2016 年に報告されている抗体保有状況に合致することを確認した. 今後は, 残りの血清を用いて JEV に対する中和試験を実施し, JEV に対して高い中和抗体価を保有する血清を選別し, 選別された血清の他のフラビウイルスへの交差反応を解析する予定である.

[前木孝洋, 田島茂, 加藤文博, 柴崎謙一, 池田真紀子, 谷口怜, 高崎智彦, 林昌宏, 西條政幸]

5) ベトナム人日本脳炎患者血清の日本脳炎ウイルス遺伝子型 I 型および V 型に対する中和能解析

ベトナムの日本脳炎 (Japanese encephalitis, JE) 患者血清を用いて, JEV 遺伝子型 I (JEV GI) および JEV 遺伝子型 V (JEV GV) に対する中和能を比較した. 2014 年の 5 月から 8 月の間にベトナム北部で JE と診断された患者 (2 歳から 40 歳の男女 22 名) 由来血清 22 検体を使用した. IgM 抗体価は ELISA 法により測定した. 中和能は Vero 細胞を用いた 50% プラーク減少法により評価した. 血清は 2 倍階段希釈で, 10 倍から 10,240 倍までの間で評価した. 攻撃ウイルスには, Mie/41/2002 株 (GI) と JEV GV Muar 株を使用した. JEV I に対する中和抗体価は最低 40 倍から最高 10,240 倍の範囲であった. 一方 JEV V に対しては最低 20 倍から最高 5,120 倍の範囲であった. JEV GI / JEV GV 比が 1 (同力価), 2, 4, 8, 16, 32 のものがそれぞれ 2 検体 (9.1%), 6 検体 (27.2%), 4 検体 (18.2%), 8 検体 36.4%, 1 検体 (各 4.5%), 1 検体 (各 4.5%) であった. 中央値は 4 であった. 今回調べた JE 患者由来検体のうちの 6 割以上で,

JEV GI-JEV GV 間で4倍以上の差がみられた。同力価が2検体あったが、JEV GVの方が高いものはなかった。これまでベトナム北部でJEV GVが同定されたとする報告はない。患者はJEV GIあるいはJEV GIIIに感染したと考えられる。今回の結果から、中和試験により多くの場合でJE患者がGI(あるいはGIII)とGVのどちらに感染したかを判断できる可能性が示唆された。[田島茂, 池田真紀子; Thi Thu Thuy Nguyen, 長谷部太(長崎大学熱帯医学研究所ベトナム拠点)]

3. ジカウイルスに関する研究

1) プラークサイズを決定するジカウイルスゲノム責任領域の同定

ジカウイルス(ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016株)には異なるプラークサイズを形成するウイルスが混在していた。このプラークサイズの大小と関連して、ZIKVのM遺伝子における230番目のアミノ酸に差異があることが明らかとなった。プラークサイズが大きいアフリカ型ZIKV MR-766株の感染性分子クローンに、このアミノ酸変異を挿入し解析したところ、プラークサイズはより小さくなった。このことから、この部位がプラークサイズの大小を規定する責任領域であることが明らかとなった。[加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 平良雅克(千葉県衛生研究所)]

2) ジカウイルス Chiba 株の性状解析

2016年度、フィジーから帰国したデングウイルス感染症疑い患者の血清からジカウイルス Chiba 株(ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016株)が分離された。この株をVero細胞に接種すると、大きさの異なる2種類のプラークが形成された。このプラークサイズの差異を引き起こす原因が、M遺伝子における230番目のアミノ酸の差異にあるこの部位の変異は、Vero細胞における増殖能や、インターフェロンアルファレセプター欠損マウスへの病原性にも影響することも明らかにされた。[田島茂, 加藤文博, 中山絵里, 谷口怜, 林昌宏, 西條政幸; 河合康洋(バイオセーフティー管理室)]

3) アフリカ型ジカウイルスとアジア型ジカウイルス

の病原性解析

アフリカ型ジカウイルス MR-766 株とアジア型ジカウイルス PRVABC59 株はマウスに対する病原性に大きな差異があることが明らかとなった。アフリカ型ジカウイルス MR-766 株感染性分子クローンに PRVABC59 株の構造蛋白質をそれぞれ組換えたキメラウイルスを用い、マウス病原性を解析したところ prM 領域がマウス病原性に関与する領域であることが明らかとなった。さらに prM の31番目のアミノ酸変異がマウス病原性を左右する部位の一つである可能性が示唆された。[加藤文博, 中山絵里, 谷口怜, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 河合康洋(バイオセーフティー管理室)]

4) ジカウイルス Asian/American lineage 株間での性状比較

ZIKVは分子系統学的に2つのlineageに分類されるが、今世紀の流行はいずれもAsia/American lineageによるものである。2016年度このlineageがさらに3種類のsublineage(東南アジア亜型, 太平洋諸国亜型, アメリカ亜型)に分類可能であることを示した。3種のsublineageは同定地域や流行時期とおおよそ一致することから, sublineage間でウイルス性状に差異がある可能性がある。私たちが保有する各sublineageの性状を*in vitro*および*in vivo*で比較した。東南アジア亜型NIID123株のVero細胞における増殖性は, 他株のそれらに比べより低かった。NIID123株と太平洋亜型Chiba株の蚊由来培養細胞での増殖性は, アメリカ亜型PRVABC59株のそれに比べやや低かった。インターフェロンアルファレセプター欠損マウスに感染させた場合, PRVABC59株で最もウイルス血症レベルが高く, 次いでChiba株が高く, NIID123株で最も低かった。また臓器(脳, 脊髄, 肝臓, 腎臓, 脾臓)中のウイルスレベルもほぼ同様の順番であった。しかし脾臓ではChiba株が最も高かった。精巣への影響も観察したが, PRVABC59株接種個体で最も高頻度かつ顕著な萎縮がみられた。以上より, 最も大きな流行が起こった地域・時期のPRVABC59株の増殖性および生体への影響が, 3つのsublineageの中で最も

高い可能性が示唆された。[田島茂, 中山絵里, 加藤文博, 谷口怜, 林昌宏, 西條政幸; 河合康洋 (バイオセーフティー管理室)]

- 5) アジア型ジカウイルス感染性分子クローンの構築
アジア型 ZIKV は系統学的に中南米亜型, 東南アジア亜型そして太平洋諸島亜型に細分類される。PRVABC59 株, ZIKV/Hu/NIID123/2016 株, ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016 株は, それぞれ中南米亜型, 東南アジア亜型そして太平洋諸島亜型に細分類される。ZIKV に関するウイルス学的解析において強力なツールである感染性分子クローンを構築した。[加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸]
- 6) ジカウイルス感染モデルとしてのマーマセットの評価

マーマセットは DENV 感染症のモデル動物になり得ることが, 過去の研究により明らかとなっている。

2016 年度, マーマセットが ZIKV 感染症のモデル動物になり得るか否かを評価した。また, 抗 DENV 抗体をもつマーマセットが ZIKV に感染した場合の病態を解析した。2017 年度は, これらの研究を継続した。対照マーマセット個体 3 体, DENV-2 型既感染個体 7 個体に対し, ZIKV アジア株の 1 種である PRVABC59 株を皮下接種し, 感染 3 日目に対照マーマセット 1 個体, DENV-2 既感染個体 3 個体を剖検, 感染 7 日目に対照マーマセット 2 個体, DENV-2 既感染個体 4 個体を剖検して各種臓器を採材した。採取された臓器中のウイルスゲノム量を定量した。また, 感染 0, 3, 7 日目に得られた血清, 尿, 咽頭スワブ中のウイルスゲノム量を定量した。採材臓器の多くがウイルスゲノム陽性であった。中でも腋窩リンパ節, 鼠径リンパ節, 浅頸リンパ節, 脾臓を中心にウイルスゲノム量がより高い値を示した。一方で大脳, 小脳ではウイルスゲノムは検出されないか, 検出されたとしても非常に低いゲノム量であった。感染 3, 7 日目に得られた血清, 尿, 咽頭スワブ中にはいずれもウイルスゲノムが検出された。DENV-2 既感染群と非感染群のウイルスゲノム量間には有意な差は認められなかった。今後採各臓

器の病理学的解析, 既感染群の個体から得られた腹水及び胸水について解析し, 抗 DENV 抗体の ZIKV 感染時の影響の有無について解析する予定である。[谷口怜, Muhammad Azami Nor Azila, 加藤文博, 前木孝洋, 中山絵里, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 網康至, 須崎百合子 (動物管理室); 永田典代, 岩田奈織子 (感染病理部); Moi Meng Ling (長崎大学); 高崎智彦 (神奈川県衛生研究所)]

- 7) タイ国から帰国した患者から分離された ZIKV/Hu/Kng/2017/17-D501 株の遺伝子配列決定
タイ国から帰国した患者から分離された ZIKV (ZIKV/Hu/Kng/2017/17-D501 株) の遺伝子配列を決定した。また, 同株はアジア型東南アジア亜型に分類された。[加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 高崎智彦 (神奈川県衛生研究所)]
- 8) ジカウイルス妊娠感染モデルとしてのマーマセットの評価

先天性 ZIKV 感染症は胎児で小頭症をはじめとした種々の症状を呈する先天性疾患を引き起こす。妊娠女性が ZIKV に感染した場合に胎児・新生児が先天性 ZIKV 感染症を発症することがある。本研究では妊娠マーマセットに ZIKV PRVABC59 株を皮下接種し, 胎内感染について解析した。流産がみられた個体についてはその流産物を回収し, また流産しなかった個体については感染 8 日目に安楽殺して, ウイルス学的に解析した。妊娠 50-60 日のマーマセット 3 頭に PRVABC59 株を接種した場合, 感染 2 日目に 1 頭が流産, 感染 8 日目に 1 頭が流産した。残りの 1 頭は感染 8 日目に胎児の心拍を確認した。感染 8 日目に流産した個体と妊娠維持していた個体について剖検し, 子宮内容物に関してウイルス学的解析, 病理学的解析を行った。子宮内膜, 胎児, 羊水において ZIKV が検出された。また, 子宮内膜間質, 脱落膜に ZIKV 抗原が検出された。感染 2 日目に流産した個体に関しては流産物から ZIKV ゲノムは検出されなかった。これらの結果から感染 8 日目には ZIKV が子宮内に浸潤していることが明らかとなった。[谷口怜, 林昌宏, Muhammad Azami Nor Azila, 加藤

文博, 前木孝洋, 中山絵里, 田島茂, 西條政幸; 網康至, 須崎百合子(動物管理室); 鈴木忠樹, 永田典代, 岩田奈織子(感染病理部); Moi Meng Ling(長崎大学); 高崎智彦(神奈川県衛生研究所)]

9) I型インターフェロンレセプターノックアウトマウスを用いたジカウイルス妊娠マウスモデルの解析

2016年度 C57BL/6 から作出された I 型インターフェロン受容体欠損マウス (IFNAR-KO) の成マウスに ZIKV PRVABC59 を感染させても致死的でないことを明らかにした。しかし, 妊娠 IFNAR-KO マウスに対して妊娠後 9.5 日目以前に ZIKV PRVABC59 を感染させた場合, 胎仔は母胎内で死産, 吸収され, 妊娠後 10.5 日目を以降に ZIKV PRVABC59 を感染させた場合, 胎仔は異常なく出産することが明らかとなった。妊娠 9.5 日目に ZIKV PRVABC59 を感染させた場合, 死産, あるいは虚弱仔の出産が確認された。2017 年度は, 既 ZIKV 感染 IFNAR-KO マウスに対して妊娠 9.5 日目に ZIKV を再感染させた場合, 胎仔に対する感染が防御されるか否かを検討した。妊娠中の既 ZIKV 感染 IFNAR-KO マウスに ZIKV を感染させた場合でも母体 9 匹で 67%~100% の胎児生存率が認められたのに対し, ZIKV 感染歴のない妊娠 IFNAR-KO マウスに ZIKV を感染させた場合には, 母体 11 匹中 1 匹のみで胎児生存が認められた。このことから ZIKV に対する抗体を保有する場合, 妊娠中のウイルス感染に対して胎仔への ZIKV 感染が防御されることが明らかとなった。[谷口怜, 中山絵里, 加藤文博, 前木孝洋, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 河合康洋(バイオセーフティ管理室)]

4. 黄熱ウイルスに関する研究

1) 全 lineage に対応可能な黄熱ウイルスゲノム検出系の構築

黄熱ウイルス (Yellow fever virus, YFV) は 7 つの lineage に分類される。これらのウイルスゲノム配列を比較したところ, 私たちが保有する YFV ゲノムの検出法 (TaqMan リアルタイム PCR 法)

では, 2 つの lineage の検出が困難であることが予想された。そこで, すべての lineage に対し反応可能となるよう, 既存のプライマー・プローブセットを改変した。この改変により, これまで反応性の悪かった lineage に対しても反応性が改善した。新たなプライマー・プローブセットは広範な YFV に対応可能と考えられる。[田島茂, 前木孝洋, 谷口怜, 加藤文博, 林昌宏]

5. その他の研究

1) フレボウイルスの核蛋白質 (N) の機能解析

重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) 及びハートランドウイルス (HRTV) はそれぞれアジア及び米国で報告された新規フレボウイルスである。2016 年度, 私たちは SFTSV 及び HRTV の全てのゲノム分節のミニゲノムシステムを確立した。そこで 2017 年度では本系を用いて SFTSV 及び HRTV の N および RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (L) の各セグメントにおける転写複製能を比較検討した。また, 得られた結果及び SFTSV と HRTV の N のアミノ酸配列を比較した結果から, SFTSV と HRTV のキメラ N 発現プラスミドを作製, SFTSV の N の転写複製に必須なアミノ酸領域を同定した。その結果, SFTSV の N は HRTV の N に対して機能的互換性を持つが, HRTV の N は SFTSV の N に対して機能的互換性を持たないことが明らかとなった。また, S, M, L いずれの分節のミニゲノムプラスミドを用いた場合でも同様であった。このことはウイルス種に関係することなく各分節の UTR は機能性を持つことを意味する。さらにその理由が N のアミノ酸配列のうち 2-28 番目のアミノ酸及び 77-102 番目のアミノ酸領域が HRTV であるキメラ N は, ウイルスゲノムの転写複製を阻害することによることが明らかとなった。SFTSV の N の α 1-2 ヘリックス領域 (2-28AA) は N の多量体形成に重要な領域であり, この多量体形成の有無がウイルスゲノムの転写複製効率へ影響を与える可能性が示唆された。また, N の 77-102AA はリボ核酸形成時, L の転写複製能へ影響を与える可能性が考えられた。[谷

口怜, 下島昌幸, 福士秀悦, 黒須剛, 吉河智城, 加藤文博, 前木孝洋, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 森川茂 (獣医科学部); 谷英樹 (富山大学)]

2) 鹿児島県で採取されたダニにおけるウイルス分離の検討

これまでにダニ媒介性脳炎ウイルス, SFTSV 等のダニ媒介性アルボウイルスによる感染症が報告されている。そこで日本における詳細なダニ媒介性アルボウイルスの分布状況を明らかにするため鹿児島県で採取されたダニにおけるウイルス保有状況を調査した。その結果キチマダニよりコルチウイルス属に分類されるウイルスが細胞培養を用いたウイルス分離法によって分離され, このウイルスをダニの採集された地名からタルミズダニウイルス (Tarumizu tick virus: TarTV) とした。全ゲノム解析と系統樹解析の結果, TarTV は新規のダニ媒介性コルチウイルスであることが明らかとなった。また TarTV を乳飲みマウス脳に接種したところ, 毒性を示さなかった。[林 昌宏, 伊藤 (高山) 睦代, Posadas-Herrera Guillermo, 山口幸恵, 堀谷まどか, 西條政幸; 藤田龍介, 小林大介, 室田勝功, 渡辺護, 伊澤晴彦, 澤辺京子 (昆虫医科学部); 江尻寛子 (防衛医大); 山内健生 (兵庫県立大); 片山幸枝, 水谷哲也 (農工大); 畝田龍星, 南昌平, 下田宙, 前田健, (山口大); 野田伸一 (鹿児島大)]

IV. 神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

1) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における 3Rs の導入

狂犬病ワクチンの有効性を確認する力価試験においては, マウスを試験ワクチンにより免疫した後致死量の狂犬病ウイルスを接種し, その生死を指標としてワクチンの防御能を評価している。本方法は動物に与える苦痛が大きいことが問題となるため, 私たちは「死亡」に替わる安楽死の指標 (人道的エンドポイント) の設定について検討した。2017 年度より国家検定において, 麻痺の症状を指標とする人道的エンドポイントを導入し

た。その結果, 死亡したマウス 250 匹中 235 匹 (94%) に安楽殺を実施することが出来, 苦痛を与える日数を約 3~4 日短縮させた。さらに作業時間も短縮され, 作業負担の軽減につながった。[伊藤 (高山) 睦代, 佐藤正明, Posadas-Herrera Guillermo, 加藤博史, 木下一美, 西條政幸]

2) 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いた中東呼吸器症候群に対するワクチン開発

MERS コロナウイルス (MERS-CoV) はヒトに致死的な呼吸器感染症 (中東呼吸器症候群, MERS) を引き起こす。中東で流行が続いているが, 現在のところ使用可能なワクチンはない。そこで, 非増殖性 P 遺伝子欠損狂犬病ウイルス (RV) ベクターを用いて, MERS-CoV に対するワクチン開発を試みた。本 RV ベクターは細胞では増殖できないため安全である。そして, 目的蛋白質を発現させることで, その蛋白質に対して免疫を誘導することが出来る。リバースジェネティクス法により, MERS-CoV の主要抗原である S1 蛋白質を感染細胞において発現する RV ベクターを作出した。本ベクターワクチンをマウスに接種し, その安全性と有効性を確認した。[加藤博史, 伊藤 (高山) 睦代, 林昌宏, 佐藤正明, Posadas-Herrera Guillermo, 西條政幸]

2. JC ポリオーマウイルスに関する研究

1) 脳脊髄液中 JC ウイルス検査による進行性多巣性白質脳症の診断支援および発生動向に関する臨床・疫学的解析

進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal encephalopathy, PML) は免疫不全患者等において発生する致死的な脱髄性疾患であり, JC ウイルス (JCV) によって引き起こされる。その診断では, 脳脊髄液中の JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である。当研究室では 2007 年度より医療機関への診断支援および PML 実験室サーベイランスを目的として本検査を継続して実施している。2007 年度から 2017 年度までに 1,874 件の検査依頼を受け付け, PML 疑い患者 208 名の脳脊髄液検体から JCV ゲノム DNA を検出した。2017

年度においては 28 名の患者が脳脊髄液 JCV 陽性を呈し、PML と診断された。被検者の情報（基礎疾患、年齢、治療歴等）に基づいてデータベースを構築し、国内の PML の動向を解析した。近年では自己免疫疾患を有する患者において PML が増加傾向にあることを明らかとなった。また、PML の診断や治療において臨床医と連携を取りながら症例の研究およびサーベイランスを実施した。〔中道一生、西條政幸〕

2) 脳脊髄液中 JC ウイルスの超高感度 PCR 検査系の確立および臨床検査における実用化

PML の診断や治療においては、脳脊髄液 (CSF) 中の JCV ゲノム DNA を標的としたリアルタイム PCR 検査が有用であり、国内において実施されている本検査の検出下限値は CSF 検体 1 mL あたり 200 コピー程度であった。過去に当研究室において本検査を実施した CSF-JCV 陽性者のデータを後方視的に解析したところ、約 10% の患者において初回検査時に微弱な増幅シグナルを認めたものの陽性判定には至らず、追加の検査で陽性が判明していた。2016 年度において、CSF 中に放出された微量の JCV を確実に検出するための超高感度 PCR 検査系（検出下限値 10 コピー/mL CSF 検体）を確立した。また、20 施設以上の医療機関の協力の下で同検査系のバリデーションを実施し、臨床検査における信頼性を確認した。2017 年度には、本検査系を実際の臨床における診断技術として正式に導入し、微量の CSF 中 JCV を検出することで PML の早期診断および治療等に貢献した。〔中道一生、西條政幸〕

3. 節足動物媒介性ウイルスに関する研究

1) サンドフライウイルスの診断系確立

サンドフライウイルスは、サシチョウバエにより媒介され、ヒトに急性の熱性疾患や脳炎、髄膜炎を起こす。主に地中海沿岸や中東で発生し、旅行者の輸入感染例も報告されている。しかし、このウイルスに対する検査体制は全く整っていない。そこで、サンドフライウイルスに対する血清学的および遺伝学的検査体制の確立した。蛍光抗体法

に用いるための感染細胞の抗原スライドを作製したところ、血清学的診断に使用出来ることが示された。さらに、既報のプライマーセットによる RT-PCR 法の確立を試みたところ、各プライマーがそれぞれのウイルスを特異的に検出出来ることが確認された。〔伊藤（高山）睦代、Posadas-Herrera Guillermo、佐藤正明、加藤博史、木下一美、西條政幸〕

V. ヘルペスウイルスに関する研究

1. 単純ヘルペスウイルスに関する研究

1) 組換え単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) を用いた既報のアシクロビル (ACV) 耐性チミジンキナーゼ (vTK) 中のアミノ酸変異に対する検証

HSV-1 の ACV 耐性誘導メカニズムの一つに vTK のアミノ酸変異がある。本研究では HSV-1 の BAC (Bacterial Artificial Chromosome) システムを用いて、ACV 治療に抵抗性を示した HSV-1 による脳炎患者報告に基づいて、vTK 配列中の 41 番目、93 番目、125 番目、156 番目、257 番目の 5 つのアミノ酸変異に着目し、これらの部分にそれぞれの変異を導入させた組換え HSV-1 を作製した。作製されたウイルスの ACV 感受性を Vero 細胞におけるプラーク減少法により ACV 感受性を調べた。93 番目 (Ala→Val) と 125 番目 (Gln→His) の変異は ACV 耐性を誘導し、41 番目 (Arg→His)、156 番目 (Ala→Val)、および 257 番目 (Glu→Lys) の変異は ACV 耐性を誘導しなかった。〔佐藤正明、稲垣拓哉、藤井ひかる、伊藤（高山）睦代、西條政幸〕

2) 単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) のアシクロビル耐性機序に関する研究

HSV-1 の ACV 耐性はチミジンキナーゼ (TK) または DNA polymerase (DNApol) 遺伝子に変異が導入される事により獲得される。2016 年度に HSV-1 の TK 遺伝子を欠損させ、HSV-1 UL50-51 領域に水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) の TK 遺伝子を挿入させたキメラウイルス HSV-1-VZV-TK (親株) を作製し、それを用いて ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK クローンを作出した。作出された

ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK クローンのうち VZV-TK 及び DNApol 両遺伝子のいずれにも変異が認められなかったクローン (2-1 株) が分離された。そのウイルスの ACV 耐性機序の解明を試みた。2-1 株感染 Vero 細胞より DNA を抽出し、サンガー法及び次世代シーケンサーを用いて全ゲノム配列を決定した。TK 及び DNApol 遺伝子配列は親株のそれらと完全に一致していた。全ゲノム配列を決定し、親株と比較したところ ACV 耐性を誘導する可能性のあるいくつかのアミノ酸変異が認められる遺伝子を同定した。[山田壮一、藤井ひかる、原田志津子、西條政幸]

3) 単純ヘルペスウイルス 1 型および水痘・帯状疱疹

ウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子上におけるアシクロビル耐性責任変異の出現頻度の比較

2016 年度、HSV-1 において、TK 遺伝子を欠損させ、代わりに UL50-UL51 領域に VZV の TK 遺伝子を搭載したキメラウイルス (HSV-1-VZV-TK) を作出し、それをアシクロビル (ACV) 存在下で培養することで、HSV-1 DNA ポリメラーゼ遺伝子特異的に ACV 耐性変異を導入させる系を開発した。本年度はその機序を明らかにすることを目的として、HSV-1-VZV-TK ウイルスの VZV の TK 遺伝子が搭載された部位へ HSV-1 TK 遺伝子を搭載させた組換えウイルス (HSV-1-HSV1TK) を作出し、本ウイルスを ACV 存在下で培養した際に、TK 遺伝子および DNA ポリメラーゼ遺伝子にどのような変異が誘導されるか検証した。

47 クローンの ACV 耐性 HSV-1-HSV1TK についてその TK 遺伝子配列を解析した結果、いずれも HSV-1 TK 遺伝子上に ACV 耐性を誘導する変異が生じていた。この中で 38 クローンについては、ホモポリマー領域における 1 塩基欠損または挿入が、4 クローンについては 1 塩基置換によるアミノ酸が生じていた。興味深いことに残り 5 クローンについては、一部 HSV-1 TK 遺伝子およびその周辺領域約 600~3200bp に渡る広範囲の欠損による HSV-1 TK 欠損が生じていた。本結果および昨年度の結果より、ACV 耐性誘導変異は HSV-1 の場合と比較して VZV TK 遺伝子上には生じにくい

ことが明らかとなった。これは ACV 耐性 HSV-1 に関する臨床報告が ACV 耐性 VZV のそれと比較してはるかに多い現状の理由と考えられた。[原田志津子、藤井ひかる、山田壮一、吉河智城、西條政幸；大村夏美、稲垣拓哉；柴村美帆（東京大学）；加藤博史（東北大学）]

4) アシクロビル (ACV) 耐性ヘルペス脳炎 (HSE)

を疑われた患者から同定されたヒト単純ヘルペスウイルス I 型由来チミジンキナーゼ (HSV-1-vTK) アミノ酸変異のウイルス学的薬剤耐性および病原性の評価

HSE は HSV-1 によって引き起こされる疾病の一つであり、その治療には ACV が用いられている。

近年、この治療において ACV 耐性が疑われた症例が報告され、それらの耐性は vTK アミノ酸配列の変異によるものと提唱されている。これまでに免疫不全者 2 例、新生児ヘルペスウイルス感染症患者 1 例、免疫健全成人 2 例において ACV 耐性 HSV-1 脳炎が報告されている。免疫不全者 2 例ではそれぞれにチミジンリン酸化酵素遺伝子のフレームシフト変異が、新生児例ではチミジンリン酸化酵素に Q125H の、免疫健全成人 2 例ではそれぞれ R41H、A156V のアミノ酸変異が認められている。今回我々はこれらの提唱による ACV 耐性誘導を検証するため Bacterial Artificial Chromosome システムを用いて、vTK アミノ酸配列の 41 番目、125 番目、156 番目にそれぞれ Arg→His (R41H)、Gln→His (Q125H)、Ala→Val (A156V) の変異を導入した組換え HSV-1 ウイルスを作製し ACV 耐性を評価した。その結果 Q125H の変異を持った HSV-1 は ACV 耐性を示したが、R41H および A156V は耐性を示さなかった。

この Q125H 変異ウイルスはガンシクロビルおよびペンシクロビルにも耐性を示した。さらに、この変異ウイルスをマウス脳内に接種した感染実験では、この変異ウイルスは ACV 感受性の親株と比べ低い病原性を示したが、vTK 欠損ウイルス (HSV-1-delTK) と比べると高く、神経毒性を有していることが示された。免疫健全成人における ACV 耐性 HSV-1 脳炎症例において、ACV 耐性ウ

ウイルスが出現したとする根拠はない。これまでに ACV 耐性 HSV-1 脳炎が確認されているのは新生児 1 例と免疫不全者 2 例のみである。免疫健全成人において、ACV 耐性 HSV-1 による脳炎が起こるリスクは非常に低いことが考えられる。[佐藤正明, 稲垣拓哉, 藤井ひかる, 西條政幸]

2. 水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)に関する研究

1) VSV 抗体測定系の開発

弱毒生水痘ワクチン株である vOka 株は、Oka 株 (pOka 株) をヒト及びモルモット由来細胞にて継代することにより弱毒化されたワクチンであり、有効性及び安全性が高いワクチン株として世界中で使用されている。日本において水痘ワクチンが定期接種化されその有効性の評価 (流行予測事業) が開始された。その結果、抗体誘導能が比較的低いことが明らかとなった。そこでサーベイランスにおける抗体価測定系の強化のため、通常の ELISA とは異なる抗体価測定系の構築を行っている。2016 年度は、細胞腫、固定方法等の比較検討により、MeWo 細胞を用いるのが間接蛍光抗体法 (IFA) に適していることが示された。更に、VZV 膜糖蛋白質 gB を発現させた MeWo 細胞でも試みたところ、より明確に判定が可能であった。2017 年度は VZV 膜糖蛋白質恒常発現細胞を構築した。pLJM1 プラスミドに VZV の各膜蛋白質遺伝子をクローニングし、packaging 及び envelope 蛋白質を発現するプラスミドを 293T 細胞へトランスフェクションすることにより、VZV 膜糖蛋白質発現レンチウイルスを構築した。MeWo 細胞、293T 細胞、ARPE19 細胞に、作製された VZV 膜糖蛋白質発現レンチウイルスを接種し、薬剤による選択の下で、継代を行うことにより、VZVgL (MeWo 細胞)、VZVgB 及び gE (293T 細胞) を恒常的に発現する細胞の構築が確認された。IFA に用いたところ、VZVgL 発現 MeWo 細胞においてははっきりとした蛍光シグナルが確認された。[山田壮一, 西條政幸]

3. ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)に関する研究

1) HCMV ワクチン開発に関する研究

ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) のエンベロープには多種の糖蛋白質が存在し、それぞれ複合体 (glycoprotein complex ; gc) を形成している。中でも、gC1=glycoprotein (g) B の多量体、gCII=gM/gN の複合体、gCIII=gH/gL/gO または gH/gL/UL128-131 の複合体が細胞への吸着・侵入・融合に主に関与しており、これらが主要なウイルス中和抗体の標的と推測されている。本研究では小児、および移植後の免疫不全患者などで問題となる、HCMV 感染症への有効なワクチン開発を目標とし、HCMV 感染既往者の血清中の中和抗体価と各膜蛋白質に対する抗体価の相関を調べ、感染防御に最適な標的膜蛋白質を同定した。2016 年度は、血液提供ボランティアから血清を分離し、HCMV 感染既往者における血清中の各膜蛋白質に対する特異的抗体価及び HCMV に対する中和抗体価を測定し、その相関を調べた。各膜蛋白質に対する抗体価と中和抗体価の相関性では gH に対する抗体価および gB に対するそれとが高い相関性を示した。一方で、gH と gB 間に相関が認められなかった。ワクチン抗原としては gB 及び gH の両方が必要ことが示唆された。2017 年度は、所内全体より血液提供ボランティアを募って約 80 名分の血清を分離して研究対象者の数を増やし、HCMV 株には Merilin 株と上皮細胞への感染性を持つ臨床分離株 (2017 年 1 月分離) を使用した。繊維芽細胞には MRC-5 細胞、上皮細胞としては RPE-1 細胞を使用した。各 gp を様々な Tag 付で発現するプラスミドを設計し、それらを 293FT 細胞に co-transfection することで各膜蛋白質複合体を発現させた。その細胞をスライド上に固定し免疫蛍光抗体法によって血清中特異的抗体価を測定した。また *in vitro* バイオアッセイにて各血清の中和抗体価を繊維芽細胞、上皮細胞の 2 つの系で測定し、各 gc に対する特異的抗体価と中和抗体価の相関を求めた。MRC-5 および RPE-1 いずれにおいても、HCMV 中和抗体価は gB および gM/gN 特異的抗体価との相関性はなく、gH/L 複合体に対する特異的抗体価は高い相関性を示した。これまで、HCMV ワクチン開

発では gB が主要な標的であったが、近年 gH 複合体の重要性が明らかとなっており、今回の成績はその知見を支持するものであった。[吉河智城, 柴村美帆, 山田壮一, 藤井ひかる, 西條政幸]

属に分類される新種のウイルスであることが明らかにされた。[山田壮一, 稲垣拓哉, 藤井ひかる, 吉河智城, 西條政幸]

4. その他ヘルペスウイルスの関する研究

1) コウモリ由来ヘルペスウイルスに関する研究

コウモリが保有するウイルスには、ヒトに対して病原性を示すものもあるため、コウモリ保有ウイルスを調べることは公衆衛生上意義あることである。これまで5株のアルファヘルペスウイルス、2株のベータヘルペスウイルス、2株のガンマヘルペスウイルスがコウモリから分離されている。9株のうち一部はその詳細な性状解析がなされているが、依然としてコウモリヘルペスウイルスのウイルス学的性状には不明な点が多い。本研究ではベトナムに生息するオオコウモリ (*Pteropus lylei*) から分離されたヘルペスウイルス、 *Pteropus lylei*-associated alphaherpesvirus (PLAHV) の性状を解析した。2017年度は次世代シーケンサーを用いて PLAHV の全ゲノム解析を行った。全長144,008塩基対であり、そのうちに72個の遺伝子が予測された。ヘルペスウイルスのDNAポリメラーゼのアミノ酸配列を用いた系統解析の結果、PLAHV はヘルペスウイルス科アルファヘルペスウイルス亜科単純ウイルス属に分類される新規ウイルスであった。PLAHV を各種培養細胞に接種して、その増殖能を解析した。サル、ヒト、コウモリの培養細胞において増殖したが、特にコウモリの細胞およびヒトの子宮頸部上皮細胞において、優れた増殖能を示した。PLAHV、PLAHV と系統的に近縁なコウモリ単純ウイルスである Fruit bat alphaherpesvirus 1 (FBAHV1)、ヒトの単純ウイルスである herpes simplex virus 1 および 2 (HSV-1, HSV-2) をそれぞれ感染させ免疫を誘導させたマウスの血清を用いて、各ウイルスに対する中和試験を行った。PLAHV と FBAHV1 の間で血清学的交差性が確認された。一方で、コウモリとヒトの単純ウイルス間では血清学的交差性は認められなかった。以上の結果より PLAHV は単純ウイルス

VI. リケッチアに関する研究

1. リケッチア症対策の総合的研究

1) リケッチア・レファレンスセンター活動に関する研究

リケッチア症の強い地域特性を考慮し、全国ブロックの横糸となる地方衛生研究所のリケッチア・レファレンスセンターを中心とした全国共通基盤の構築を目指している。2017年度は、紅斑熱群リケッチアとつが虫病オリエンチアの duplex realtime PCR について臨床検体用いた多施設間評価のデータを蓄積した。このリアルタイム PCR 系は既報の nested PCR 系と同等の感度を示した。しかしながら、人工的に遺伝子を増幅する診断法には検出限界を考慮する必要があり、また、遺伝子検出系に適用できる検体採取が困難な症例もあることから、ペア血清を用いた抗体価上昇の検出を合わせて検討することの重要性も確認された。さらにレファレンスセンター会議等においてリケッチア症の疫学、診断法の情報のアップデートにより、全国の担当施設を中心に情報・技術の普及と情報共有をおこなった。[安藤秀二; 鈴木理恵(福島県衛生研究所); 坂恭平(青森県環境保健センター); 平良雅克(千葉県衛生研究所); 長島真美(東京都健康安全研究センター); 赤地重宏(三重県保健環境研究所); 名古屋真由美, 佐賀由美子(富山県衛生研究所); 寺杉文男(和歌山県環境衛生研究センター); 近平雅嗣(兵庫県健康生活科学研究所健康科学研究センター); 木田浩司, 岸本寿男(岡山県環境保健センター); 島津幸枝(広島県立総合技術研究所保健環境センター); 松本道明(高知県衛生研究所); 山本真美, 御供田睦代(鹿児島県環境保健センター); 野町太郎(宮崎県衛生環境研究所); 佐藤寛子(秋田県健康環境センター); 川森文彦, 大橋典男(静岡県立大学)]

2) ダニ媒介性細菌感染症の疾患発生に係る地域特性把握のための野外調査 2017

引続き国内の未調査地域を中心にダニ採集とダニからの病原体分離による検出を実施した。また、全国

の野生動物、マダニ等から、国内の実態が未解明の病原性リケッチア等の分離、原因不明となったダニ関連疾患の臨床検体からの病原体検出・分離を継続した。採取マダニ等は野外疫学研究の分担者と共有し、複数の地域からダニ相とダニ保有病原体の情報を集積してきた。また、既調査地の補完と未調査地域の積極的な調査も併行し、秋田県をはじめ、原因不明のダニ関連疾患解明のため、新興感染症も含め対象症例の検討、検体確保を継続、分担者等と連携して学術論文、学会発表、アウトリーチ活動も積極的に展開し、国内分布種についてさらなる情報収集と公表を行った。さらに、バイオリソースとなる各種リケッチア分離株を収集した。[安藤秀二;佐藤寛子(秋田県健康環境センター);藤田博己, 藤田信子(馬原アカリ医学研究所)]

3) 宮崎県におけるダニ媒介性人獣共通感染症の感染環境とリスク評価

宮崎県では複数種のダニ媒介感染症の発生が知られている。それらの防疫対策の立案に不可欠な科学的知見を得ることを目的に、イノシシ、シカ等の野生動物を歩哨動物とし、またマダニ等も対象材料とし、各種病原体遺伝子、抗体保有状況を検討するとともに、病原体分離を試みた。イノシシの材料では、確率モデル解析により、SFTSV とつつが虫病、つつが虫病と日本紅斑熱の組み合わせにおいて、感染歴の発生確率に有意な関連性が認められた。今後、対象疾患と材料をさらに増やし、詳細な検討を継続する予定である。[安藤秀二;桐野有美, 岡林環樹, 山本正悟(宮崎大学)]

2. リケッチア症の基礎的研究

1) プラークアッセイを用いた *Rickettsia japonica* 感染価測定系の確立とその応用

細胞内寄生細菌である *Rickettsia japonica* の感染価測定法として、プラークアッセイ系を確立し、その応用を試みた。*R. japonica* を Vero 細胞に接種し、0.5%メチルセルロース入りの培地で重層し培養した。接種 7-8 日後 10%ホルマリンで固定した *R. japonica* 感染細胞をメチレンブルーで染色することで、形成されたプラークを観察、計数する

ことが可能であった。この方法を応用し、重層に用いる培地の中に抗菌薬を混合することで *R. japonica* のプラーク形成が阻害されるかどうか評価を試みた。*R. japonica* に効果を示すことが知られているテトラサイクリン系、ニューキノロン系、マクロライド系の抗菌薬で濃度依存的なプラーク形成の阻害が観察された。またこれらの抗菌薬の最小発育阻害濃度 (MIC) は既報の欧米の紅斑熱リケッチアのそれらと、ほぼ同等の値を示した。これらの結果から、本法により薬剤感受性試験が可能であることが示された。[佐藤正明, 小川基彦, 安藤秀二]

2) リコンビナントつつが虫病リケッチア型特異的抗原 (TSA) を抗原とした血清診断法の開発

つつが虫病リケッチアの型特異抗原 (TSA) を発現する組換えバキュロウイルスを作成した。組換えバキュロウイルス感染 sf-9 昆虫細胞を抗原として、間接蛍光抗体 (IF) 法によるつつが虫病的血清診断法を評価した。つつが虫病リケッチア感染細胞を抗原とした従来の IF 法により陽性であると診断された 15 人すべてが、組換え TSA を用いた IFA で陽性と診断された。一方、紅斑熱リケッチア症および発疹熱患者 10 人および非患者 10 人はすべて陰性であった。組換え TSA は、血清診断法の抗原として有用であった。BSL2 実験室で調整可能であり、今後の応用が期待される。[小川基彦, 西條政幸, 安藤秀二]

3) つつが虫病リケッチアの病原性に関する研究

一酸化窒素によるマクロファージにおけるつつが虫病リケッチアの増殖促進作用のメカニズムの解明のため、マイクロアレイ解析により絞り込んだ増殖関連因子 (遺伝子) の候補について、CRISPR/CAS9 法によるノックアウト (KO) 細胞の作出を行った。これまでに、候補遺伝子の PPARG 遺伝子が KO されたマウス繊維芽細胞 L-929 の作出に成功した。今後、他の候補遺伝子についても KO 細胞の作出を行い、KO 細胞におけるつつが虫病リケッチアの増殖を検討する予定である。[小川基彦, 佐藤正明, 西條政幸]

4) ツツガムシの共生細菌に関する研究

つつが虫病は、ツツガムシにより媒介される。昆虫や節足動物の共生細菌は、宿主に影響を与えたり、

共生細菌同士で干渉したりすることが知られているが、ツツガムシにおいてつつが虫病リケッチア以外の共生細菌についての知見は極めて限られている。そこで、ツツガムシの共生細菌叢を解明することを計画した。これまでに、日本国内、患者発生地域3および非発生地域1の計4地域で、ツツガムシ(幼虫)を採取し、細菌の16SrRNAに対するPCR法により遺伝子検出を行ったところ、全てが陽性となった。今後、次世代シーケンサーを用いた16SrRNA細菌叢解析を行い、ツツガムシの共生細菌の詳細を明らかにする予定である。[小川基彦, 西條政幸;高橋守(埼玉医大);松谷峰之介(山口大);高田伸弘(福井大);野田伸一(鹿児島大)]

- 5) エーリキア属の探索と国内未解明なダニ媒介感染症の分離、マウス分離株の細胞馴化、診断法開発
米国からヒト・エーリキア症標準株(*Ehrlichia chaffeensis*)を導入し、血清診断法開発のための抗原作製を進めた。また国内のマウス分離エーリキア属株も各種株化細胞への適用を拡大して馴化を試みた。従来よりエーリキア等に用いる株化細胞では盲継代でも感染成立しないか、初代で感受性の可能性が得られた一部細胞も継代により感染力価が減少した。マウスでは増殖することから、同じ科のアナプラズマ属とあわせ宿主細胞側の因子がブレークポイントとなる可能性が高い。[安藤秀二;平良雅克(千葉県衛生研究所)]

VII. クラミジアに関する研究

1. クラミジアの遺伝子診断法の開発

- 1) 全てのヒトのクラミジア症の起原菌(性病クラミジア, 肺炎クラミジアおよびオウム病クラミジア)を同時に検出可能な系の開発
ヒトのクラミジア症の原因となる病原体は、本来の病態以外の疾患との関連が数多く報告されている。肺炎クラミジアが動脈硬化病変から、オウム病クラミジアが妊婦の胎盤から検出されることなどが例としてあげられる。そこで、全てのヒトのクラミジア症の起原菌(性病クラミジア, 肺炎クラミジアおよびオウム病クラミジア)を同時に検出可能な系の開発を行っている。これまでに、標的とする遺伝子を2つに絞込み、

TaqMan法によるリアルタイムPCR法のプライマーおよびプローブの設計を行った。今後、感度および特異性について検討する予定である。[小川基彦, 西條政幸(感染研・ウイルス第一部)]

レファレンス業務

1. 行政検査

1) SFTSに関する行政検査

12件のSFTSに関する行政検査を実施した。[下島昌幸, 吉河智城, 黒須剛, 福士秀悦, 緒方もも子, 西條政幸]

2) アルボウイルスに関する行政検査

日本脳炎ウイルス, デングウイルス, ジカウイルスおよびチクングニアウイルスに対する行政検査を実施した。[田島茂, 中山絵里, 前木孝洋, 谷口怜, 池田真紀子, 谷ヶ崎和美, 林昌宏, 西條政幸]

3) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成29年度は、2ロットの乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定(不活化試験および力価試験)が実施され、合格と判定された。[伊藤(高山)睦代, 佐藤正明, Posadas Herrera Guillermo, 加藤博史, 西條政幸]

2. その他のレファレンス業務

1) 遺伝子検査用ヘルペスウイルス陽性対照DNAの配布

HSV-1, HSV-2, VZV, HHV-6A, HHV-6B, HHV-7の検査に用いるコントロールDNAを要望のあった地方衛生研究所に配布した。[山田壮一, 津田美穂子, 福井良子, 西條政幸]

2) アルボウイルス検査コントロールRNA配布

デングウイルス(1-4型), ジカウイルス, 日本脳炎ウイルス, チクングニアウイルスの検査に用いられるコントロールRNAを要望のあった地方衛生研究所および保健所に配付した。[田島茂, 谷口怜, 前木孝洋, 加藤文博, 林昌宏]

3) 急性脳炎および出血熱に関する検査業務

日本脳炎, デング熱, ジカ熱およびチクングニア熱に関する行政検査以外の実験室診断を実施した。

[田島茂, 中山絵里, 前木孝洋, 谷口怜, 池田真紀子, 谷ヶ崎和美, 林昌宏, 西條政幸]

- 4) ヘルペスウイルス感染症関連検査の受け入れ
行政検査以外にHSV-1, HSV-2, VZVおよびHCMVの検査をそれぞれ3検体, 1検体, 2検体及び8検体を行った。[山田壮一, 津田美穂子, 福井良子, 西條政幸]
- 5) リケッチア臨床分離株の収集および標準抗原の分与
リケッチア関連の臨床分離株の収集を行うとともに, レファレンスセンター等に血清診断用標準抗原, 標準株の配布・分与を行った。また, 抗原やコントロールの供給に関しては, 各ブロックのリケッチアセンターと必要とする地方衛研との調整を行い, 各地域内の連携強化を試みた。[安藤秀二]
- 6) リケッチアならびにクラミジアに関する検査業務
リケッチアならびにクラミジアに関する病原体診断と血清診断を, 行政検査依頼以外にも, リケッチア症(つづが虫病, 日本紅斑熱を含む紅斑熱群リケッチア症, 発疹チフス群リケッチア症等輸入症例も含む), オウム病, Q熱の疑い症例, また, 不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を多数検討した。[安藤秀二]

3. 品質管理に関する業務

- 1) 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定
平成29年度は57ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し, 57ロットすべてを合格と判定した。
[田島茂, 前木孝洋, 谷口怜, 加藤文博, 池田真紀子, 伊藤睦代, 中道一生, 林昌宏, 西條政幸]
- 2) 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定
小分け製品3ロットの痘そうワクチンの国家検定を実施し合格と判定した。[富士秀悦, 黒須剛, 吉河智城, 緒方もも子, 下島昌幸, 西條政幸]
- 3) 水痘ワクチンの検定
乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定27ロットおよび水痘抗原国家検定1ロットが実施され, 全ロットとも合格と判定された。[原田志津子, 山田壮一, 吉河智城, 藤井ひかる, 福井良子, 西條政幸]

- 4) クラミジア・トラコマティス体外診断薬の承認前試験

クラミジア・トラコマティス体外診断薬の承認前試験において, 現行のシステムでは評価が難しいRNAを標的とした申請品1件について対応を協議し, 申請書並びに提出資料の妥当性を元に評価を実施した。[安藤秀二]

4. 国際協力関係業務

1) JICA関連

JICAからの要請により, 平成29年10月7日~10月22日の日程でコンゴ・キンシャサに出張した。コンゴ民主共和国公共保健省, 国立生物医学研究所(INRB), JICAコンゴ民主共和国事務所を訪問し, コンゴ民主共和国における新興・再興感染症実験室診断・疫学強化のための無償資金協力の具体的計画案の作成及び今後の技術協力支援の方向性を決めるための意見交換を行った。

- 2) デング熱・ジカ熱・チクングニア熱の実験室診断に係る国際ワークショップへの講師派遣および参加

台湾CDCで開催されたデング熱・ジカ熱・チクングニア熱の実験室診断に係る国際ワークショップに講師として参加し, 蚊媒介性ウイルスの診断法について講義および実習指導を行うとともに情報交換を行った。本ワークショップにはオーストラリア, バングラディッシュ, カンボジア, ハイチ, インド, インドネシア等18ヶ国から35名が参加し, デングウイルス, ジカウイルス, チクングニアウイルスに対するMultiplex real-time RT-PCRとデングウイルスのNS1タンパク質を検出する迅速検査に係る実習を行った。感染研ウイルス第1部からも谷口研究員および加藤研究員が実習に参加した。[林昌宏, 谷口怜, 加藤文博]

- 3) アルゼンチンのパスツール動物源感染症研究所より研修生の受け入れ

アルゼンチンのパスツール動物源感染症研究所に所属するオリビア・ワタナベ氏を受入れ, アルボウイルスの診断技術について研修を実施した。さらにアルゼンチンにおけるデング熱について議論

- した。 [林昌宏, 田島茂, 前木孝洋, 谷口怜, 加藤文博, 西條政幸]
- 4) 分子学のおよび血清学的診断と日本脳炎, ジカ熱およびその他のアルボウイルスとの鑑別診断に係るSEAR/WPR合同実験室診断および能力育成ワークショップへの参加
- フィリピンマニラで開催された分子学のおよび血清学的診断と日本脳炎, ジカ熱およびその他のアルボウイルスとの鑑別診断に係るSEAR/WPR合同実験室診断および能力育成ワークショップに参加し, 日本脳炎, ジカ熱およびその他のアルボウイルスとの鑑別診断について発表した。また, SEAR/WPR両地域各国の当該研究所担当者および米国CDCの担当者と日本脳炎, ジカ熱, デング熱の流行状況および診断法について情報交換をした。その後実施されたELISA法による節足動物媒介性ウイルス検出法に係るWHO 西太平洋地域における国際熟達度試験において正答率100%の成績を得た。 [林昌宏]
- 5) 第8回WHO日本脳炎世界特別研究室および西太平洋地域レファレンス研究室非公式会議の開催
- 中国CDCから2名, 韓国CDCから3名の研究者を迎え, 第8回WHO日本脳炎世界特別研究室および西太平洋地域レファレンス研究室非公式会議を開催した。これまでの西太平洋地域における日本脳炎予防に対する取り組みを評価し, 一定の成果が得られていることを確認した。また日本脳炎ウイルス遺伝子型V型ウイルスの再興とその分布状況等, 新たな課題について情報交換を行った。 [林昌宏, 田島茂, 前木孝洋, 谷口怜, 加藤文博, 池田真紀子, 西條政幸; 鈴木亮介 (ウイルス第二部); 新井智 (感染症疫学センター); 室田勝功 (昆虫医科学部); 脇田隆宇, 倉根一郎]
- 6) JICA国際技術研修会への参画
- 平成30年1月17日JICA国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための国家検定機関強化」において感染研村山庁舎を訪れたフィリピンおよびベトナムのワクチン研修者6名に対して, 日本の狂犬病ワクチンの現状および品質管理についてのレクチャーを行った。さらに, 不活化試験に用いられる直接
- 蛍光抗体法の実習指導を狂犬病ウイルス感染マウス脳の圧片標本を用いて行った。 [伊藤 (高山) 睦代, 佐藤正明, Posadas Herrera Guillermo, 加藤博史, 木下一美]
- 7) 世界保健機関 (WHO) における痘瘡ウイルス研究専門家会議 (ACVVR) への参画
- 2017年11月にWHOで開催された第19回ACVVRにアドバイザーとして参画した。 [西條政幸]
- 8) Global Health Security Action Group-Laboratory Network (GHSAG-LN) 会議への貢献
- GHSAG-LN会議 (2017年5月ウイニペグ, 2017年11月メキシコシティ) に出席し, カナダ, 米国, メキシコ, イギリス, フランス, ドイツ, イタリア, 日本間の感染症, バイオセーフティ, バイオセキュリティ等の連携強化のための打ち合わせに参画し, これらの国々により連携した対策の基盤整備に貢献した。 [西條政幸]
- 9) 世界保健機関 (WHO) による Joint External Evaluation (JEE) 活動への貢献
- WHOによる各国の感染症対策を主とした保健行政のあり方を評価するJEEの活動の一環としてなされた, ナイジェリアへのJEEにおける専門家委員を担当した。 [西條政幸]
5. その他
- 1) 動物医薬品検査所より日本脳炎ワクチンの国家検定に係る研修生の受け入れ
- 動物医薬品検査所より研修生を3名受入れ, 日本脳炎不活化ワクチンの力価測定法および不活化試験法について実習を実施した。さらに動物ワクチンとの国家検定法の差異について情報交換を行った。 [田島茂, 前木孝洋, 谷口怜, 加藤文博, 池田真紀子, 伊藤睦代, 中道一生, 林昌宏, 西條政幸]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Azami NAM, Moi ML, Ami Y, Suzaki Y, Lim CK, Taniguchi S, Saijo M, Takasaki T, Kurane I.

- Genotype-specific and cross-reactive neutralizing antibodies induced by dengue virus infection: detection of antibodies with different levels of neutralizing activities against homologous and heterologous genotypes of dengue virus type 2 in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Virology* 15(1):51, 2018
- 2) Baba M, Toyama M, Sakakibara N, Okamoto M, Arima N, Saijo M. Establishment of an antiviral assay system and identification of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus inhibitors. *Antiviral Chem Chemother* 25(3):83-89, 2017
 - 3) Egawa K, Shimojima M, Taniguchi S, Nagata N, Tani H, Yoshikawa T, Kurosu T, Watanabe S, Fukushi S, Saijo M. Virulence, pathology, and pathogenesis of Pteropine orthoreovirus (PRV) in BALB/c mice: Development of an animal infection model for PRV. *PLoS Negl Trop Dis* 11(12):e0006076, 2017
 - 4) Ejiri H, Lim CK, Isawa H, Yamaguchi Y, Fujita R, Takayama-Ito M, Kuwata R, Kobayashi D, Horiya M, Posadas-Herrera G, Iizuka-Shiota I, Kakiuchi S, Katayama Y, Hayashi T, Sasaki T, Kobayashi M, Morikawa S, Maeda K, Mizutani T, Kaku K, Saijo M, Sawabe K. Isolation and characterization of Kabuto Mountain virus, a new tick-borne phlebovirus from *Haemaphysalis flava* ticks in Japan. *Virus Res* 244:252-261, 2017
 - 5) Ejiri H, Lim CK, Isawa H, Fujita R, Murota K, Sato T, Kobayashi D, Kan M, Hattori M, Kimura T, Yamaguchi Y, Takayama-Ito M, Horiya M, Posadas-Herrera G, Minami S, Kuwata R, Shimoda H, Maeda K, Katayama Y, Mizutani T, Saijo M, Kaku K, Shinomiya H, Sawabe K. Characterization of a novel thogotovirus isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks in Ehime, Japan: A significant phylogenetic relationship to Bourbon virus. *Virus Res* 249:57-65, 2018
 - 6) Fujita R, Ejiri H, Lim CK, Noda S, Yamauchi T, Watanabe M, Kobayashi D, Takayama-Ito M, Murota K, Posadas-Herrera G, Minami S, Kuwata R, Yamaguchi Y, Horiya M, Katayama Y, Shimoda H, Saijo M, Maeda K, Mizutani T, Isawa H, Sawabe K. Isolation and characterization of Tarumizu tick virus: A new coltivirus from *Haemaphysalis flava* ticks in Japan. *Virus Res* 242:131-140, 2017
 - 7) Fujii H, Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Yoshikawa T, Yamada S, Omura N, Inagaki T, Shibamura M, Harada S, Taniguchi S, Saijo M. Application of next-generation sequencing to detect acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1 variants at low frequency in thymidine kinase gene of the isolates recovered from patients with hematopoietic stem cell transplantation. *J Virol Methods* 251:123-128, 2018
 - 8) Fukuhara T, Tamura T, Ono C, Shiokawa M, Mori H, Uemura K, Yamamoto S, Kurihara T, Okamoto T, Suzuki R, Yoshii K, Kurosu T, Igarashi M, Aoki H, Sakoda Y, Matsuura Y. Host-derived apolipoproteins play comparable roles with viral secretory proteins Erns and NS1 in the infectious particle formation of Flaviviridae. *PLoS Pathog* 13(6):e1006475, 2017
 - 9) Fukushi S, Fukuma A, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Melaku SK, Sentsui H, Saijo M. Characterization of novel monoclonal antibodies against the MERS-coronavirus spike protein and their application in species-independent antibody detection by competitive ELISA. *J Virol Methods* 251:22-29, 2017
 - 10) Gaowa, Wulantuya, Yin X, Cao M, Guo S, Ding C, Kawabata H, Ando S, Su H, Shimada M, Takamoto N, Shimamura Y, Masuda S, Ohashi N. First case of human *Anaplasma phagocytophilum* infection in Inner Mongolia, China. *Jpn J Infect Dis* 71:155-157, 2018
 - 11) Gokuden M, Fukushi S, Saijo M, Nakadouzono F, Iwamoto Y, Yamamoto M, Hozumi N, Nakayama K, Ishitani K, Nishi N, Ootsubo M. Low seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus antibodies in individuals living in an endemic area in Japan. *Jpn J Infect Dis* 71(3):225-228, 2018

- 12) Hashimoto T, Kutsuna S, Maeki T, Tajima S, Takaya S, Katanami Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa S, Ohmagari N. A case of dengue fever imported from Burkina Faso to Japan in October 2016. *Jpn J Infect Dis* 70:675-677, 2017
- 13) Hashimoto T, Kutsuna S, Tajima S, Nakayama E, Maeki T, Taniguchi S, Lim CK, Katanami Y, Takeshita N, Hayakawa K, Kato Y, Ohmagari N. Importation of Zika virus from Vietnam to Japan, November 2016. *Emerg Infect Dis* 23(7):1223-1225, 2017
- 14) Hishiki T, Kato F, Tajima S, Toume K, Umezaki M, Takasaki T, Miura T. Hirsutine, an indole alkaloid of *Uncaria rhynchophylla*, inhibits late step in dengue virus lifecycle. *Front Microbiol* 8:1674, 2017
- 15) Iizuka I, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Fukushi S, Ogata M, Morikawa S, Hasegawa H, Mizuguchi M, Kurane I, Saijo M. A single vaccination of nonhuman primates with highly attenuated smallpox vaccine, LC16m8, provides long-term protection against monkeypox. *Jpn J Infect Dis* 70(4):408-415, 2017
- 16) Ikeda J, Matsushima A, Ishii W, Goto T, Takahashi K, Nakamichi K, Saijo M, Sekijima Y, Ikeda SI. Brain biopsy is more reliable than the DNA test for JC virus in cerebrospinal fluid for the diagnosis of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Intern Med* 56(10):1231-1234, 2017
- 17) Ishibashi K, Miura Y, Matsumura K, Kanemasa Y, Nakamichi K, Saijo M, Toyohara J, Ishii K. PET Imaging of ¹⁸F-FDG, ¹¹C-methionine, ¹¹C-flumazenil, and ¹¹C-4DST in progressive multifocal leukoencephalopathy. *Intern Med* 56(10):1231-1234, 2017
- 18) Jain J, Okabayashi T, Kaur N, Nakayama E, Shioda T, Gaiind R, Kurosu T, Sunil S. Evaluation of an immunochromatography rapid diagnosis kit for detection of chikungunya virus antigen in India, a dengue-endemic country. *Virol J* 15(1):84, 2018
- 19) Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Yoshikawa T, Wang L, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Lim CK, Fujii H, Yamada S, Harada S, Oka A, Mizuguchi M, Taniguchi S, Saijo M. The association of the emergence of acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 with the prognosis in hematopoietic stem cell transplantation patients. *J Infect Dis* 215(6):865-873, 2017
- 20) Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Wang L, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Lim CK, Taniguchi S, Oka A, Mizuguchi M, Saijo M. Human parainfluenza virus type 3 infections in hematopoietic stem cell transplantation patients: The mode of nosocomial infections and the prognosis. *Jpn J Infect Dis* 71(2):109-115, 2018
- 21) Kamiyama N, Soma R, Hidano S, Watanabe K, Umekita H, Fukuda C, Noguchi K, Gendo Y, Ozaki T, Sonoda A, Sachi N, Runtuwene LR, Miura Y, Matsubara E, Tajima S, Takasaki T, Eshita Y, Kobayashi T. Ribavirin inhibits Zika virus (ZIKV) replication in vitro and suppresses viremia in ZIKV-infected STAT1-deficient mice. *Antiviral Res* 146:1-11, 2017
- 22) Kaneko M, Shikata, Matsukage S, Maruta M, Shinomiya H, Suzuki T, Hasegawa H, Shimojima M, Saijo M. A patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome and hemophagocytic lymphohistiocytosis-associated involvement of the central nervous system. *J Infect Chemother* 24(4):292-297, 2018
- 23) Kaneko M, Maruta M, Shikata H, Asou K, Shinomiya H, Suzuki T, Hasegawa H, Shimojima M, Saijo M. Unusual presentation of a severely ill patient having severe fever with thrombocytopenia syndrome: a case report. *J Med Case Rep* 11(1):27, 2017
- 24) Katanami Y, Kutsuna S, Taniguchi S, Tajima S, Takaya S, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Detection of Zika virus in a traveller from Vietnam to Japan. *J Travel Med* 24(5), 2017
- 25) Kato F, Ishida Y, Kawakami A, Takasaki T, Saijo M, Miura T, Hishiki T. Evaluation of *Macaca radiata* as a

- non-human primate model of Dengue virus infection. *Sci Rep* 8(1):3421, 2018
- 26) Kato F, Tajima S, Nakayama E, Kawai Y, Taniguchi S, Shibasaki K, Taira M, Maeki T, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. Characterization of large and small-plaque variants in the Zika virus clinical isolate ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016. *Sci Rep* 7(1):16160, 2017
- 27) Kutsuna S, Kato Y, Nakayama E, Taniguchi S, Takasaki T, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N. A case of consecutive infection with Zika virus and Chikungunya virus in Bora Bora, French Polynesia. *J Infect Chemother* 23(2):114-116, 2017
- 28) Moi ML, Ami Y, Muhammad Azami NA, Shirai K, Yoksan S, Suzaki Y, Kitaura K, Lim CK, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I. Marmosets (*Callithrix jacchus*) as a non-human primate model for evaluation of candidate dengue vaccines: induction and maintenance of specific protective immunity against challenges with clinical isolates. *J Gen Virol* 98(12):2955-2967, 2017
- 29) Murakami S, Takenaka-Uema A, Kobayashi T, Kato K, Shimojima M, Palmarini M, Horimoto T. Heparan sulfate proteoglycan is an important attachment factor for cell entry of Akabane and Schmallenberg viruses. *J Virol* 91(15). pii: e00503-17, 2017
- 30) Nakayama E, Tajima S, Kotaki A, Shibasaki KI, Itokawa K, Kato K, Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M, Tomita T, Saijo M, Takasaki T. A summary of the imported cases of Chikungunya fever in Japan from 2006 to June 2016. *J Trop Med* 25(1), 2018
- 31) Nishiyama S, Misu T, Shishido-Hara Y, Nakamichi K, Saijo M, Takai Y, Takei K, Yamamoto N, Kuroda H, Saito R, Watanabe M, Tominaga T, Nakashima I, Fujihara K, Aoki M. Fingolimod-associated PML with mild IRIS in MS: A clinicopathologic study. *Neuro Immunol Neuroinflamm* 5(1):e415, 2017
- 32) Ogawa M, Satoh M, Kataoka M, Ando S, Saijo M. Nitric oxide enhanced the growth of an obligated intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi* in murine macrophages. *Microbial Pathog* 107:335-340, 2017
- 33) Ogawa M, Satoh M, Saijo M, Ando S. Evaluation of a broad-ranging and convenient enzyme-linked immunosorbent assay using the lysate of infected cells with five serotypes of *Orientia tsutsugamushi*, a causative agent of scrub typhus. *BMC Microbiol* 17(1):7, 2017
- 34) Omura N, Yoshikawa T, Fujii H, Shibamura M, Inagaki T, Kato H, Egawa K, Harada S, Yamada S, Takeyama H, Saijo M. A novel system for constructing a recombinant highly-attenuated vaccinia virus strain (LC16m8) expressing foreign genes and its application for the generation of LC16m8-based vaccines against herpes simplex virus 2. *Jpn J Infect Dis* 71:229-233, 2018
- 35) Ozawa H, Tajima S, Nakayama E, Kato K, Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M, Usuku S. Isolation and complete genome sequencing of Zika virus imported from the Dominican Republic to Japan. *Jpn J Infect Dis* 71(1):72-74, 2018
- 36) Phanthanawiboon S, Pambudi S, Omokoko MD, Hanabara K, A-Nuegoonpipat A, Kamitani W, Ikuta K, Kurosu T. Construction of a high-yield dengue virus by replacing nonstructural proteins 3-4B without increasing virulence. *Biochem Biophys Res Commun* 495(1):1221-1226, 2018
- 37) Sayama Y, Zamoto-Niikura A, Matsumoto C, Saijo M, Ishihara C, Matsubayashi K, Nagai T, Satake M. Analysis of antigen-antibody cross-reactivity among lineages and sublineages of *Babesia microti* parasites using human babesiosis specimens. *Transfusion* 58:1234-1244, 2018
- 38) Shigemura T, Nakazawa Y, Yoshikawa T, Fujii H, Yamada S, Saijo M, Okuyama R. Severe acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 infection following cord blood transplantation. *Int J Hematol*. 2018
- 39) Suzuki T, Kutsuna S, Taniguchi S, Tajima S, Maeki T, Kato F, Lim CK, Saijo M, Tsuboi M, Yamamoto K,

- Morioka S, Ishikane M, Hayakawa K, Kato Y, Ohmagari N. Dengue virus exported from Cote d'Ivoire to Japan, June 2017. *Emerg Infect Dis* 23(10):1758-1760, 2017
- 40) Taira M, Ogawa T, Nishijima H, Yamamoto K, Hotta C, Akita M, Tajima S, Saijo M. The first isolation of Zika virus from a Japanese patient who returned to Japan from Fiji in 2016. *Jpn J Infect Dis* 70(5):586-589, 2017
- 41) Tajima S, Nakayama E, Kotaki A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Saito Y, Shibasaki KI, Saijo M, Takasaki T. Whole genome sequencing-based molecular epidemiologic analysis of autochthonous dengue virus type 1 strains circulating in Japan in 2014. *Jpn J Infect Dis* 70(1):45-49, 2018
- 42) Takagi Y, Matsui K, Nobori H, Maeda H, Sato A, Kurosu T, Orba Y, Sawa H, Hattori K, Higashino K, Numata Y, Yoshida Y. Discovery of novel cyclic peptide inhibitors of dengue virus NS2B-NS3 protease with antiviral activity. *Bioorg Med Chem Lett* 27(15):3586-3590, 2017
- 43) Takaya S, Kutsuna S, Nakayama E, Taniguchi S, Tajima S, Katanami Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa S, Ohmagari N. Chikungunya fever in traveler from Angola to Japan, 2016. *Emerg Infect Dis* 23(1):156-158, 2017
- 44) Takayama-Ito M, Lim CK, Nakamichi K, Kakiuchi S, Horiya M, Posadas-Herrera G, Kurane I, Saijo M. Reduction of animal suffering in rabies vaccine potency testing by introduction of humane endpoints. *Biologicals* 46:38-45, 2017
- 45) Taniguchi S, Fukuma A, Tani H, Fukushi S, Saijo M, Shimojima M. A neutralization assay with a severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strain that makes plaques in inoculated cells. *J Virol Methods* 244:4-10, 2017
- 46) Taniguchi S, Maeda K, Horimoto T, Masangkay JS, Puentespina R Jr, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Nagata N, Egawa K, Singh H, Fukuma A, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Tsuchiaka S, Omatsu T, Mizutani T, Une Y, Yoshikawa Y, Shimojima M, Saijo M, Kyuwa S. First isolation and characterization of pteropine orthoreoviruses in fruit bats in the Philippines. *Arch Virol* 162(6):1529-1539, 2017
- 47) Tsuboi M, Kutsuna S, Maeki T, Taniguchi S, Tajima S, Kato F, Lim CK, Saijo M, Takaya S, Katanami Y, Kato Y, Ohmagari N. Dengue virus type 2 in travelers returning to Japan from Sri Lanka, 2017. *Emerg Infect Dis* 23(11):1931-1933, 2017
- 48) Ueno T, Sato N, Kon T, Haga R, Nunomura JI, Nakamichi K, Saijo M, Tomiyama M. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with thymoma with immunodeficiency: a case report and literature review. *BMC Neurol* 18(1):37, 2018
- 49) Yoshikawa T, Fujii H, Okutani A, Shibamura M, Omura N, Egawa K, Kato H, Inagaki T, Harada S, Yamada S, Morikawa S, Saijo M. Construction and characterization of bacterial artificial chromosomes harboring the full-length genome of a highly attenuated vaccinia virus LC16m8. *PLoS One* 13:e0192725, 2018

2. 和文発表

- 1) 新井智, 佐藤弘, 奥野英雄, 森野紗衣子, 多屋馨子, 大石和徳, 林昌宏, 田島茂, 西條政幸. 1988, 1992, 2004, 2008, 2012, 2014, 2016 年度感染症流行予測調査事業日本脳炎感受性調査担当各都府県衛生研究所. 2007~2016 年度の人の日本脳炎中和抗体保有状況ならびに日本脳炎ワクチン接種状況. *病原体微生物検出情報* 38(8): 159-161, 2017
- 2) 安藤秀二. リケッチア, 中込治監修, 神谷茂・錫谷達夫編集 *標準微生物学* 第 13 版. 262-270, 2018
- 3) 安藤秀二. 発疹チフス epidemic typhus. 特集「グローバル化・温暖化と感染症対策」. *小児科臨床増刊号* 70: 2261-2266, 2017
- 4) 安藤秀二, 木下一美. 感染症発生動向調査における「つつが虫病」と「日本紅斑熱」届出報告死亡例の検討. *病原体微生物検出情報*, 38: 124-126, 2017

- 5) 石川真理子, 駒根綾子, 松島勇紀, 清水智美, 清水英明, 松尾千秋, 三崎貴子, 岡部信彦, 原田 怜, 江口麻樹, 西村正道, 田巻いづみ, 雨宮文明, 黒澤仁美, 小泉祐子, 林 露子, 田崎 薫, 細田智弘, 坂本光男, 安藤秀二. 当初蚊媒介感染症が疑われた発疹熱輸入事例—川崎市. 病原体微生物検出情報 38: 121-123, 2017
- 6) 林昌宏. 序—蚊媒介性ウイルス感染症の流行地域の拡大—. 化学療法の領域 33(8): 34-37, 2017
- 7) 林昌宏. 動物咬傷後の狂犬病ワクチン接種. ドクターサロン. 61(4): 246-250, 2017
- 8) 林昌宏, 加藤文博, 田島茂, 谷口怜, 前木孝洋, 中山絵理, 西條政幸. 海外における日本脳炎の流行状況とその対策. 病原体微生物検出情報 38(8): 166-168, 2017
- 9) 井上智, 伊藤睦代, 野口 章. 【One Health の視点からみた感染症の現状と対策】 狂犬病の現状と課題. 最新医学 72(4): 554-562, 2017
- 10) 井上智, 伊藤睦代, 堀田明豊, 野口章. 狂犬病の臨床と課題 臨床とウイルス 45(5): 336-347, 2017
- 11) 江川和孝, 西條政幸. ヒトサル痘. 化学療法の領域 33(9): 1817-1824, 2017
- 12) 加倉井真樹, 島田瑞穂, 安藤秀二, 出光俊郎. 多数のフタトゲチマダニ若虫による刺咬症の1例, 皮膚科の臨床 59(10): 1599-1603, 2017
- 13) 加藤博史. 重症熱性血小板減少症候群. ファルマシア 54(3): 237-238, 2018
- 14) 佐藤弘, 新井智, 森野紗衣子, 奥野英雄, 多屋馨子, 大石和徳, 林昌宏, 田島茂, 西條政幸. 2016年度感染症流行予測調査事業日本脳炎感染源調査担当各都道府県衛生研究所. わが国のブタにおける日本脳炎に対する HI 抗体保有状況 (2016年感染症流行予測調査より). 病原体微生物検出情報 38(8): 161-162, 2017
- 15) 柴村美帆, 権藤久司, 西條政幸. 造血幹細胞移植患者におけるアシクロビル耐性ヘルペスウイルス. 血液内科 76(5): 675-681, 2018
- 16) 西條政幸. ウイルス出血熱に対する特異的治療法開発研究 -新しいエビデンス-. 最新医学 72(8): 1187-1192, 2017
- 17) 西條政幸. クリミア・コンゴ出血熱. 小児科臨床 70 (増刊号) : 2239-2242, 2017
- 18) 西條政幸. ジカウイルスと妊婦, 胎児. 日本産婦人科・新生児血液学会雑誌 27(2): 49-55, 2017
- 19) 西條政幸. 節足動物感染症 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) . 小児科臨床 70 (増刊号) : 2235-2238, 2017
- 20) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) . 日本防菌防黴学会雑誌 47(7): 303-307, 2017
- 21) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群の流行状況と課題. 日本内科学会雑誌 106: 439-433, 2017
- 22) 西條政幸. 新興ウイルス感染症の現状と対策. 空気が清浄 54(5): 44-48, 2017
- 23) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) . BIO Clinica 6(2):75-79, 2017
- 24) 西條政幸. 新興ウイルス感染症に対するワクチン開発の現状. 公衆衛生 81(17): 566-573, 2017
- 25) 田島茂. 日本脳炎. 化学療法の領域 33(8): 1635-1643, 2017
- 26) 田島茂. ジカウイルス感染症. 別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患 感染症・ワクチンと慢性炎症. 6(2): 58-63, 2017
- 27) 田島茂, 谷口怜, 前木孝洋, 中山絵理, 加藤文博, 西條政幸, 林昌宏. 日本脳炎ワクチンの歴史と, マウス脳由来ワクチンから組織培養ワクチンへの変更について. 病原体微生物検出情報 38(8): 164-165, 2017
- 28) 谷口怜. カリフォルニア脳炎オルソブニヤウイルス感染症. 化学療法の領域 33(8): 113-121, 2017
- 29) 谷口怜. 西アフリカおよびフィリピンのエボラウイルス感染症流行への貢献. 臨床とウイルス 45(1): 41-46, 2017
- 30) 中道一生, 西條政幸. PML の DNA 診断の超高感度化とその可能性. 神経内科 87(4): 372-376, 2017
- 31) 中道一生, 西條政幸. PML の DNA 診断の超高感度化とその可能性. 神経内科 87(4): 372-376, 2017
- 32) 前木孝洋. ジカウイルス感染症. 化学療法の領域 33(8): 1587-1601, 2017

- 33) 前木孝洋. 日本脳炎. 小児科臨床 70(S): 2165-76, 2017
- 34) 前木孝洋, 西條政幸. ジカウイルス感染症. 感染と消毒 24 (1): 25-32, 2017
- 35) 前木孝洋, 西條政幸. 輸入感染症. 病理と臨床 36 (臨時増刊号) : 331-339, 2017
- 36) 前木孝洋, 田島茂. 日本脳炎ワクチン. 化学療法の領域増刊 ワクチンのメリットとデメリット 33: 139-151, 2017
- 37) 前木孝洋, 谷口怜, 田島茂, 加藤文博, 中山絵理, 西條政幸, 林昌宏, 高崎智彦. 2007~2016 年に報告された日本脳炎患者検体の解析結果病原体微生物検出情報 38(8): 158-159, 2017
- 38) 三上真充, 梅田雄嗣, 松田浩一, 才田聡, 平松英文, 藤野寿典, 山田壮一, 柴村美帆, 西條政幸, 平家俊男, 足立壮一. HLA 半合致血縁者間骨髄移植後にアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス 1 型感染症を発症した一例. 日本小児血液・がん学会雑誌 54(5): 408-411, 2017
- 39) 森村歩, 白野倫徳, 小西啓司, 笠松 悠, 後藤哲志, 阿部仁一郎, 安藤秀二. 輸入 Queensland tick typhus (クイーンズランドマダニチフス) の一例. 病原体微生物検出情報 38: 123-124, 2017
- proteins of human coronavirus associated with severe pneumonia. XIVth International Nidovirus Symposium, Fannas City, Kansas, USA, June 2017
- 4) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Sekimukai H, Fukushi S, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Acute respiratory infection in human dipeptidyl peptidase 4 transgenic mice infected with Middle East respiratory syndrome coronavirus. XIVth International Nidovirus Symposium, Fannas City, Kansas, USA, June 2017
- 5) Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Kurosu T, Taniguchi S, Egawa K, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Sentsui H, Saijo M. VSV pseudotype and monoclonal antibody-based assays for determining MERS-coronavirus neutralizing antibody responses. XIVth International Nidovirus Symposium, Fannas City, Kansas, USA, June 2017
- 6) Ohashi N, Gaowa, Wuritu, Wu D, Kawamori F, Su H, Shimada M, Takamoto N, Tai H Ando S. *Anaplasma phagocytophilum* in Japan. ESCCAR-ASR Joint Meeting 2017, International Congress on Rickettsia and other Intracellular Bacteria, Marseille, France, 19-21 June 2017
- 7) Ando S. Diversity and uniformity of Rickettsia and Rickettsia-related pathogens in Japan. ESCCAR-ASR Joint Meeting 2017, International Congress on Rickettsia and other Intracellular Bacteria, Marseille, France, June 2017
- 8) Saijo M. Research progress on severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan: Treatment with T-705 (Favipiravir) and Immunoglobulin. U.S. – Japan Annual Medical Biodefense Research Symposium on “Research on Infectious Diseases with High public Health Consequences”, Rockville, Maryland, USA, June 2017
- 9) Fujii H, Kakiuchi S, Yoshikawa T, Yamada S, Omura N, Shibamura M, Harada S, Saijo M. Application of next-generation sequencing to detect acyclovir

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

- 1) Lim CK. Laboratory diagnosis of arbovirus infections in Japan NIID. International Training Workshop on Laboratory Diagnosis for Dengue/Zika/Chikungunya, Taipei, Taiwan, April 2017
- 2) Kumagai K, Elwell CA, Ando S, Engel JN, Hanada K. Both the N- and C-terminal regions of IncD are required for the interaction with the PH domain of the host ceramide transport protein CERT. Chlamydia Basic Research Society: CBRS 2017 Meeting in Charlotte, Charlotte, North Carolina, USA, April 2017
- 3) Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Fukuma A, Fukushi S, Tani H, Takeda Ma, Arai Ka, Hasegawa H, Nagata N. Expression and characterization of spike

- resistant herpes simplex virus 1 variants at low frequency in thymidine kinase gene from viral isolates, emergence in patients with stem cell transplantation. 17th International Congress of Virology, Singapore, Singapore, July 2017
- 10) Egawa K, Shimojima M, Taniguchi S, Nagata N, Tani H, Yoshikawa T, Kurosu T, Fukushi S, Saijo M. Establishment of lethal Pteropine orthoreovirus infection BALB/c mouse model. 17th International Congress of Virology, Singapore, Singapore, July 2017
- 11) Morikawa S, Kimura M, Yoshikawa T, Kaku Y, Park E-S, Imaoka K, Saijo M, Maeda K. Correlation between SFTS virus antibody positive rate in wild deer and number of SFTS patients. 17th International Congress of Virology, Singapore, Singapore, July 2017
- 12) Taniguchi S, Maeda K, Horimoto T, Mansangkay JS, Puentespin R Jr, Egawa K, Fukushi S, Yoshikawa Y, Shimojima M, Saijo M, Kyuwa S. First isolation and characterization of Pteropine orthoreoviruses in fruit bats in the Philippines. 17th International Congress of Virology International Union of Microbiological Societies 2017, Singapore, Singapore, July 2017
- 13) Lim CK. Role of NIID as the Global Specialized Laboratory for JE. SEAR/WPR Biregional Laboratory Training and Capacity Building Workshop for Molecular and Serological Diagnosis and Differential Diagnosis of Japanese Encephalitis, Zika and Other Arboviruses, Manila, Philippines, July 2017
- 14) Ogawa M, Saijo M, Ando S. Evaluation of recombinant *Orientia tsutsugamushi* specific antigens-based indirect immunofluorescent assay in diagnosis of scrub typhus. 9th Tick and Tick-borne Pathogen Conference & 1st Asia Pacific Rickettsia Conference, Cairns, Australia, 27 August-1 September 2017
- 15) Ogawa M, Shirasago Y, Ando S, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M. Inhibitory effects of caffeic acid, a coffee related organic acid, on the infection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. 9th Tick and Tick-borne Pathogen Conference & 1st Asia Pacific Rickettsia Conference, Cairns, Australia, August-September 2017
- 16) Ishii J, Kawamoto M, Fujiwara S, Imai Y, Nakamichi K, Takahashi K, Shishido-Hara Y, Kohara N. Punctate lesions demonstrated as an early sign of progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with systemic lupus erythematosus: a clinico-pathological study. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, September 2017
- 17) Tajima S. Isolation and characterization of a Zika virus strain ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016, which is the first isolate from a Japanese patient returning from Fiji in 2016. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative project reports, Tokyo, Japan, September 2017
- 18) Lim CK. Quality control test methods for Japanese encephalitis vaccines. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific, Seoul, Korea, September 2017
- 19) Lim CK. Zika and other mosquito-borne infectious diseases in Japan. The China-Asia Conference for Emerging Infectious Diseases, Beijing, China, September 2017
- 20) Saijo M, Azuma T, Tani H, Yamanaka A, Himeji D, Kawamura M, Suemori K, Haku T, Ohge H, Taniguchi T, Imataki O, Kadowaki N, Shimojima M, Yoshikawa T, Kurosu T, Fukushi S, Kohno S, Furuta Y, Yasukawa M. Efficacy of favipiravir in the treatment of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) in animal model and the clinical study on the favipiravir treatment for patients with SFTS. 2nd International Conference on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Thessaloniki, Greece, September 2017
- 21) Saijo M. Clinical, epidemiological, and virological aspects of SFTS in Japan: what we have learned and

- what we should do? ISAAR & ICIC 2017, Busan, South Korea, September 2017
- 22) Nakahara J, Kufukihara K, Tanikawa M, Nakamichi K, Saijo M, Miura Y, Fujiwara H, Jinzaki M, Yoshizaki T, Suzuki S, Takahashi S, Suzuki N. Third Japanese case of fingolimod-associated PML in natalizumab naïve MS: Coincidence or alarm bell? 7th Joint ECTRIMS ACTRIMS Meeting 2017, Paris, France, October 2017
- 23) Tajima S. Research activities on JEV in NIID, Japan. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017
- 24) Maeki T, Tajima S, Ikeda M, Kato F, Taniguchi S, Nakayama E, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. Analysis of the cross-reactivity of flaviviruses with Japanese encephalitis patients' sera showed the importance of the neutralization test. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017
- 25) Kato F. Analysis of neurovirulence in Zika virus using reverse genetics. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017
- 26) Taniguchi S. A neutralization assay with a SFTS virus strain that makes plaques in inoculated cells. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017
- 27) Lim CK. Activities of Global Specialized Laboratory for JE in Japan. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017
- 28) Tajima S. Recent dengue cases in Japan and isolation and characterization of Zika virus from imported Zika cases. The 11th Korea-Japan-China Forum for Communicable Disease Control and Prevention, Seoul, Korea, November 2017
- 29) Saijo M. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infections. GHSAG Laboratory Network Members' Scientific Presentations, Mexico City, Mexico, November 2017
- 30) Kurosu T. The dynamics of disease progression in severe dengue, Joint International Tropical Medicine Meeting, Bangkok, Thailand, December 2017
- 31) Lim CK, Taniguchi S, Moi ML, Azami NAM, Ami Y, Suzuki Y, Nagata N, Kato H, Tajima S, Hasegawa H, Kurane I, Morita K, Takasaki T, Saijo M. Animal Model of Zika fever. 50th Joint Working Conference on Viral Diseases: US-Japan Cooperative Medical Science Program, Shenzhen, China, January 2018
- 32) 西條政幸. ジカウイルス感染症って何? 感染予防はどうするの? 第10回長崎大学ハノイ公開講座, Hanoi, Vietnam, February 2018
2. 国内学会
- 1) 藤井ひかる, 垣内五月, 大村夏美, 柴村美帆, 吉河智城, 山田壮一, 原田志津子, 西條政幸. 造血幹細胞移植患者におけるアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス1型の遺伝子変異の経時的な解析. 第120回日本小児科学会学術集会, 東京, 2017年4月
- 2) Takahashi K, Sekizuka T, Fukumoto H, Nakamichi K, Suzuki T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M, Katano H. Deep-sequence identification and role in virus replication of a JCV quasispecies in PML patients. 第106回日本病理学会総会, 東京, 2017年4月
- 3) 原田志津子, 藤井ひかる, 吉河智城, 大村夏美, 稲垣拓也, 柴村美帆, 加藤博史, 山田壮一, 西條政幸. DNAポリメラーゼ変異によるアシクロビル耐性 HSV-1 を特異的に誘導するためのシステム開発. 第27回抗ウイルス療法学会学術集会・総会, 熊本, 2017年5月
- 4) 藤井ひかる, 垣内五月, 大村夏美, 柴村美帆, 吉河智城, 山田壮一, 原田志津子, 西條政幸. 造血

- 幹細胞移植患者におけるアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス1型の遺伝子変異の経時的な解析. 第27回抗ウイルス療法学会学術集会・総会, 熊本, 2017年5月
- 5) 安藤秀二. 自然界との共存は可能か～Zoonosisとしてのリケッチア症から. 宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター特別セミナー, 宮崎, 2017年5月
- 6) 西條政幸. 新興・再興感染症について...最近の状況. 第63回名古屋市公衆衛生研究発表会, 名古屋, 2017年5月
- 7) 加藤文博, 中山絵里, 河合康洋, 田島茂, 林昌宏, 高崎智彦, 西條政幸. ジカウイルス MR-766 株と PRVABC59 株の IFN 受容体欠損マウスに対する病原性の解析. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 沖縄, 2017年5月
- 8) 前木孝洋, 田島茂, 池田真紀子, 加藤文博, 谷口怜, 中山絵里, 林昌宏, 高崎智彦, 西條政幸. 日本脳炎患者血清を用いたフラビウイルス間の交差反応の解析. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 沖縄, 2017年5月
- 9) 平良雅克, 小川知子, 西嶋陽奈, 山本浩仁郎, 田島茂, 堀田千恵美, 秋田真美子. 西條政幸. 国内で初めて発熱性疾患患者から分離されたジカウイルス. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 沖縄, 2017年5月
- 10) 松井清彦, 田島茂, 林昌宏, 大畑雅典, 竹上勉, 高崎智彦. 遺伝子置換後の日本脳炎ウイルスについて. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 沖縄, 2017年5月
- 11) 藤間大貴, 加藤文博, 日紫喜隆行, 竹山春子, 高崎智彦, 田島茂, 西條政幸. サイクロフェニルによるデングウイルス増殖抑制の作用点同定の試み. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 沖縄, 2017年5月
- 12) 日紫喜隆行, 加藤文博, 田島茂, 高崎智彦. 分泌型リシフェラーゼ発現レプリコン細胞を用いた抗デングウイルス化合物の探索. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 沖縄, 2017年5月
- 13) 高橋健太, 関塚剛史, 福本瞳, 中道一生, 鈴木忠樹, 佐藤由子, 長谷川秀樹, 黒田誠, 片野晴隆. 次世代シーケンサーが明らかにした JC ウイルスのゲノム変異と PML の病態. 第58回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2017年6月
- 14) 西條政幸. Zika virus と妊婦・胎児. 第27回日本産婦人科新生児血液学会学術集会, 福島, 2017年6月
- 15) 安藤秀二. リケッチア感染症. 国際医療研究センター第3回節足動物媒介感染症研修会, 東京, 2017年6月
- 16) 門馬直太, 鈴木理恵, 壁谷昌彦, 藤田信子, 藤田博己, 安藤秀二, 仲村究. マダニの身体測定～形態同定への活用を目指して～. 第25回 SADI, 伊勢志摩, 三重, 2017年6月
- 17) 佐山勇輔, 新倉綾, 松本千恵子, 西條政幸, 松林圭二, 永井正, 佐竹正博. ヒトバベシア症原因原虫 *Babesia microti* 遺伝子型間における抗体反応性の解析. 第65回日本輸血・細胞治療学会総会, 千葉, 2017年6月
- 18) 西條政幸. ジカウイルス感染症: 日本で流行するの? 免疫のふしぎ2017, 東京, 2017年8月
- 19) 日高侑也, 林昌宏, 伊藤(高山)睦代, 朴天鎬, 君付和範, 井上謙一, 小林由紀, 伊藤琢也. 狂犬病ウイルスゲノムの分節化. 第160回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017年9月
- 20) 渡辺俊平, 須田遊人, 福士秀悦, 黒須剛, 西條政幸, 下島昌幸. ヘビのアレナウイルスの糖蛋白質 (GP) は機能的にフィロウイルスの GP に類似する. 第160回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017年9月
- 21) 佐藤(大久保)梢, 熊谷由美, 福士秀悦, 下島昌幸, 西條政孝, 山野公明, 大西真. 新興回歸熱の新規抗体検査用抗原の性能評価に関する研究. 第160回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017年9月
- 22) 平良雅克, 安藤秀二, 川端寛樹, 藤田博己, 角坂照貴, 門馬直太, 佐藤寛子, 西條政幸. マダニにおけるエーリキア属菌の遺伝子検出および分離状況. 第160回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017年9月

- 23) 安藤匡子, 村松隆之, 阿戸学, 安藤秀二. つつが虫病の理解にむけて. 第 160 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017 年 9 月
- 24) 桐野有美, 山本正悟, Ngan Mai Thi, 野町太朗, 安藤秀二, 岡林環樹. 宮崎県における歩哨動物を用いたダニ媒介性病原体の感染リスク調査. 第 160 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017 年 9 月
- 25) 下島昌幸, 谷口怜, 網康至, 永田典代, 福士秀悦, 黒須剛, 渡辺俊平, 谷英樹, 福間藍子, 岩田奈織子, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群 SFTS の霊長類モデル. 第 160 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017 年 9 月
- 26) Kurosu T, Okuzaki D, Limkittikul K, Shimojima M, Fukushi S, Watanabe S, Saijo M. The dynamics of disease progression in severe dengue. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 27) Tani H, Fujii H, Taniguchi S, Fukushi S, Kurosu T, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M. The protein kinase inhibitors inhibit entry of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in vitro. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 28) Taniguchi S, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Tani H, Yoshikawa T, Morikawa S, Kato F, Maeki T, Tajima S, Lim CK, Saijo M. Comparative analysis of viral replication and transcription function of severe fever with thrombocytopenia virus and Heartland virus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 29) Watanabe S, Marsh G, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Saijo M. The expression of Hendra virus F gene is downregulated by its untranslated region. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 30) Shimojima M, Taniguchi S, Ami Y, Nagata N, Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Tani H, Fukuma A, Iwata N, Saijo M. A non-human primate model for severe fever with thrombocytopenia syndrome. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 31) Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Sentsui H, Saijo M. Development of competitive ELISA for detecting serologic responses to MERS-CoV using novel monoclonal antibodies against spike protein. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 32) Kawagishi T, Kanai Y, Nouda R, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Nelson Bay orthoreovirus cell attachment protein σ C determines strain-specific differences in viral infectivity and pathogenesis. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 33) Watanabe M, Arii J, Shimojima M, Kato A, Kawaguchi Y. A host cell membrane protein interacts with HSV-1 gE and promotes viral cell-to-cell spread. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 34) Onishi M, Kanai Y, Kawagishi T, Nouda R, Pannacha P, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Analysis of genome packaging mechanism of Nelson Bay orthoreovirus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 35) Nouda R, Kawagishi T, Kanai Y, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Functional analysis of Nelson bay orthoreovirus p17 protein. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 36) Tajima S, Kato F, Nakayama E, Kawai Y, Shibasaki K, Taira M, Taniguchi S, Maeki T, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. The Characterization of large and small plaque variants in Zika virus Chiba isolate ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 37) Ikeda M, Tajima S, Thu Thuy NT, Linh Ly PH, Hien Thu LT, Hoang NV, Quynh LT Mai, Moi ML, Morita K, Lim CK, Saijo M, Hasebe F. Neutralization potency of the sera from Japanese encephalitis (JE) patients in Vietnam against genotype I and V JE viruses. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

- 38) Maeki T, Tajima S, Ikeda M, Kato F, Taniguchi S, Nakayama E, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. Analysis of the cross reactivity of flavivirus with Japanese encephalitis patients' sera showed the importance of neutralization test. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 39) Kato F, Nakayama E, Kawai Y, Lim CK, Saijo M, Tajima S. Difference in the pathogenicity of ZIKV MR-766 and PRVABC59 strains in IFNAR1-knockout mice and mechanism of the difference. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 40) Hishiki T, Kato F, Nio Y, Miyazaki Y, Tajima S, Hijikata M, Takasaki T. Novel antiviral activity of Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) inhibitor against dengue virus replication. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 41) Tohma D, Kato F, Hishiki T, Takeyama H, Lim CK, Tajima S, Saijo M. Site of action of Cyclofenil to inhibit dengue virus replication. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 42) 加藤博史, 伊藤(高山)睦代, 塩田(飯塚)愛恵, 福土秀悦, ポサダス・エレラ・ギジェルモ, 堀谷まどか, 佐藤正明, 森本金次郎, 西條政幸, 林昌宏. 非増殖性組換え狂犬病ウイルスベクターを用いた中東呼吸器症候群と狂犬病に対する 2 価ワクチンの開発. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 43) Nukuzuma S, Nukuzuma C, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Tasaki T, Takegami T. CPT11 prevents virus replication in JCI cells persistently infected with JC polyomavirus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 44) Takeda M, Watanabe S, Katano H, Sato Y, Noguchi K, Miura T, Okumura A, Sakamoto M, Yamada S, Inoue N. Roles of GP33, a guinea pig CMV homolog of G-protein coupled receptor, in cellular signaling and viral growth in vitro and in vivo. 第 65 回日本ウイルス学会, 大阪, 2017 年 10 月
- 45) Matsuura M, Miura T, Makino R, Yamada S, Inoue N. Guinea pig CMV infection was enhanced in epithelial cells expressing GP131 and GP133, components of the non-fibroblast tropism determinant. 第 65 回日本ウイルス学会, 大阪, 2017 年 10 月
- 46) Inagaki T, Yamada S, Hasebe F, Le MTQ, Mori K, Fujii H, Yoshikawa T, Harada S, Takeyama H, Saijo M. Characterization of alphaherpesvirus isolated from fruit bats in Vietnam. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 47) Fujii H, Harada S, Yoshikawa T, Omura N, Inagaki T, Shibamura M, Kato H, Yamada S, Saijo M. The development of the system that specifically induce herpes simplex virus type 1 DNA polymerase mutation derived from acyclovir resistance. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
- 48) 西條政幸. 最近の新興・再興ウイルス感染症について: EVD, SFTS, Zika. 平成 29 年度中国四国グループ内感染対策研修会, 岡山, 2017 年 10 月
- 49) 西條政幸. 新興ウイルス感染症とワクチン開発: 研究の最前線. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月
- 50) 佐藤翔紀, 白井慎一, 高橋育子, 加納崇裕, 矢部一郎, 遠藤知之, 豊嶋崇徳, 東海林菊太郎, 宝金清博, 松野吉宏, 太田雅之, 三浦義治, 中道一生, 西條政幸, 佐々木秀直. 脳生検により診断した進行性多巣性白質脳症の長期生存例. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月
- 51) 穴戸-原由紀子, 松林純, 中道一生, 西條政幸, 相澤仁志, 秋元治朗, 長尾俊孝. 画像・病理・遺伝子解析で悪性リンパ腫が疑われた, 高度リンパ球浸潤を伴った進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月
- 52) 前木孝洋, 田島茂, 池田真紀子, 加藤文博, 谷口怜, 中山絵里, 林昌宏, 高崎智彦, 西條政幸. 2016 年の日本脳炎患者血清を用いた, 日本脳炎ウイルスに対する中和抗体検査では遺伝子型を同定することはできなかった. 第 22 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 北九州, 2017 年 10 月
- 53) 田島茂. 国内外での蚊媒介性ウイルス感染症の状

- 況とウイルス学. 第 22 回日本神経感染症学会学術集会, 北九州, 2017 年 10 月
- 54) 中道一生, 西條政幸. 脳脊髄液中 JC ウイルスの超高感度リアルタイム PCR 検査における CLIA 認定プライマーおよびプローブの有用性. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月
- 55) 三浦義治, 中道一生, 西條政幸, 高橋健太, 鈴木忠樹, 阿江竜介, 濱口毅, 原由紀子, 三條伸夫, 雪竹基弘, 岸田修二, 澤洋文, 奴久妻聡一, 水澤英洋, 山田正仁. 本邦における進行性多巣性白質脳症 (PML) サーベイランスの現状—PML サーベイランス委員会報告—. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月
- 56) 佐野正浩, 神白麻衣子, 高橋健介, 山下嘉郎, 高木理博, 田中健之, 森本浩之輔, 安藤秀二, 有吉紅也. 南アフリカ共和国から帰国後に発熱と皮疹を認め African Tick Bite Fever の診断となった 1 例. 第 87 回日本感染症学会西日本地方会学術集会, 長崎, 2017 年 10 月
- 57) Kurosu T, Okuzaki D, Limkittikul K, Shimojima M, Fukushi S, Watanabe S, Saijo M. The dynamics of disease progression in severe dengue. 第 58 回日本熱帯医学会大会, 東京, 2017 年 11 月
- 58) 西條政幸. マダニ媒介性ウイルス感染症: SFTS. 第 58 回日本熱帯医学会大会, 東京, 2017 年 11 月
- 59) 大阿久聡恵, 小林真麻, 田部井弘一, 安藤秀二, 青笹尚彦. ツツガムシ病の 1 例. 日本皮膚科学会第 81 回東京支部学術大会, 東京, 2017 年 11 月
- 60) 福士秀悦. レストンエボラウイルス感染症. 第 17 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会, 川崎, 2017 年 12 月
- 61) 下島昌幸. 国際緊急援助隊・感染症対策チームによるコンゴ民主共和国における黄熱対策支援. 第 17 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会, 川崎, 2017 年 12 月
- 62) 西條政幸. 新規アルボウイルス感染症としての SFTS とジカウイルス感染症研究における最新の知見: 治療および予防法のあり方を考える. 平成 29 年度宮崎県感染症危機管理研修会, 宮崎, 2017 年 12 月
- 63) 熊谷圭悟, Cherilyn A Elwell, 安藤秀二, Joanne N Engel, 花田賢太郎. クラミジアのエフェクタータンパク質 IncD と宿主細胞由来のセラミド輸送タンパク質 CERT の PH ドメインとの結合には IncD の N 末領域と C 末領域が必要である. 第 90 回日本生化学会, 第 40 回日本分子生物学会合同大会, 神戸, 2017 年 12 月
- 64) 加藤文博, 日紫喜隆行, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸. デングウイルスレポーターレプリコン細胞を用いた抗ウイルス化合物スクリーニング. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 神戸, 2017 年 12 月
- 65) 安藤匡子, 松村隆之, 阿戸学, 安藤秀二. *Orientia tsutsugamushi* 7 血清型のマウスに対する病原性比較. 第 24 回リケッチア研究会, 東京, 2017 年 12 月
- 66) 小川基彦, 西條政幸, 安藤秀二. リコンビナントつつが虫病リケッチア型特異的抗原(TSA)を抗原とした間接蛍光抗体法の血清診断法としての評価. 第 24 回リケッチア研究会, 東京, 2017 年 12 月
- 67) 小川基彦, 白砂圭崇, 安藤秀二, 下島昌幸, 西條政幸, 深澤征義. コーヒー抽出物であるカフェ酸の重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) に対する増殖抑制効果. 第 24 回リケッチア研究会, 東京, 2017 年 12 月
- 68) 佐藤寛子, 藤田博己, 安藤秀二. 秋田県のツキノワグマと刺咬マダニのリケッチア検索. 第 24 回リケッチア研究会, 東京, 2017 年 12 月
- 69) 木下一美, 安藤秀二, 砂川富正, 大石和徳. 感染症発生动向調査における「つつが虫病」と「日本紅斑熱」届出報告の検討. 第 24 回リケッチア研究会, 東京, 2017 年 12 月
- 70) 桐野有美, 山本正悟, 佐藤優貴子, 野町太朗, 安藤秀二, 岡林環樹. 宮崎県の野生動物におけるダニ媒介性病原体調査. 第 24 回リケッチア研究会, 東京, 2017 年 12 月
- 71) 笠間健太郎, 後藤恭宏, 小椋義俊, 高野愛, 山本正悟, 藤田博己, 安藤秀二, 林哲也. 非病原性リ

- ケッチア *Rickettsia* sp. LON のゲノム解析. 第 24 回りケッチア研究会, 東京, 2017 年 12 月
- 72) 西條政幸. 新興感染症に対する日中韓産官学の取り組み ～重症熱性血小板減少症候群 (severe fever with thrombocytopenia syndrome : SFTS) の事例から～. 第 5 回日経アジア感染症会議, 沖縄, 2018 年 2 月
- 73) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の疫学的, 臨床的, 病理学的知見. 平成 29 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 別府, 2018 年 2 月
- 74) 西條政幸. ウイルス性出血熱, 重症熱性血小板減少症候群の流行状況, 病態, 治療・予防法: 集中治療における感染予防. 第 45 回日本集中治療医学会学術集会, 幕張, 2018 年 2 月
- 75) 西條政幸. SFTS. 第 33 回トラベラーズワクチンフォーラム研修会～ダニに媒介される感染症とその予防～, 東京, 2018 年 3 月
- 76) 林昌宏. ダニ媒介性脳炎とその予防. 第 33 回トラベラーズワクチンフォーラム研修会～ダニに媒介される感染症とその予防～, 東京, 2018 年 3 月
- 77) 林昌宏. ジカウイルス感染症の動物モデル開発. 感染症研究連携のフロンティア, 東京, 2018 年 3 月
- 78) 佐藤正明, 小川基彦, 安藤秀二, 西條政幸. Plaque assay を用いた *R. japonica* に対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度 (MIC) の測定. 第 91 回日本細菌学会総会, 福岡, 2018 年 3 月
- 79) 笠間健太郎, 後藤恭宏, 小椋義俊, 高野愛, 山本正悟, 藤田博己, 安藤秀二, 林哲也. 非病原性リケッチア *Rickettsia* sp. LON のゲノム解析. 第 91 回日本細菌学会, 福岡, 2018 年 3 月